

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Ludwigs-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. P. Falkai

Assoziationsstudie zum Einfluss eines intronischen  
Polymorphismus im GRM3-Gen auf kognitive Leistungen

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von  
Katharina Bretthauer  
aus Regensburg

2013

Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michael Ewers

Betreuung durch den promovierten Mitarbeiter: Dr. Ina Giegling

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 21.03.2013

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	6
1 Einleitung.....	7
1.1 Kognitive Phänotypen.....	7
1.1.1 Die allgemeine Intelligenz g: ein wichtiger Phänotyp in der Verhaltensgenetik.....	8
1.1.2 Exkurs: Intelligenz in der Differenzialpsychologie.....	8
1.1.2.1 Geschichte der Intelligenzmessung.....	8
1.1.2.2 Überblick über verschiedene Intelligenztheorien.....	11
1.1.3 Weitere kognitive Phänotypen.....	14
1.2 Genetik kognitiver Fähigkeiten.....	17
1.2.1 Quantitative Verhaltensgenetik.....	17
1.2.1.1 Abschätzung des erblichen Anteils durch Zwillings- und Adoptionsstudien.....	18
1.2.1.2 Die Heritabilität kognitiver Phänotypen.....	18
1.2.2 Molekulare Verhaltensgenetik.....	19
1.2.2.1 Assoziations- und Kopplungsstudien.....	20
1.2.2.2 Hypothesenbasierte Suche nach Genen für kognitive Funktionen („Kandidatengen“-Studien).....	21
1.2.2.3 Hypothesenfreie genomweite Suche nach Genen für kognitive Funktionen (genomweite Assoziationsstudien).....	23
1.2.2.4 Genetische Polymorphismen.....	24
1.2.2.5 Molekulargenetik der psychometrischen Intelligenz.....	25
1.3 Der metabotrope Glutamatrezeptor 3.....	28
1.3.1 Der Botenstoff Glutamat .....	28
1.3.2 Die verschiedenen Glutamatrezeptoren.....	28
1.3.3 Morphologie des metabotropen Glutamatrezeptors 3 (mGluR3).....	30
1.3.4 Verteilung des metabotropen Glutamatrezeptors 3.....	32
1.3.5 Funktion des metabotropen Glutamatrezeptors 3.....	33
1.3.5.1 Die glutamaterge Signaltransduktion.....	33
1.3.5.2 Wirkungsweise der mGluR3 bei der Signaltransduktion.....	34
1.3.5.3 Weitere Wirkungen der mGluR3.....	35
1.4 GRM3: Das Gen des metabotropen Glutamatrezeptors 3.....	36
1.4.1 GRM3 und Schizophrenie.....	37
1.4.1.1 Die Rolle von Glutamat in der Pathophysiologie der Schizophrenie.....	37
1.4.1.2 Studien zur Assoziation von GRM3 und rs6465084 mit der Schizophrenie.....	39
1.4.2 GRM3 und affektive Störungen.....	40
1.4.2.1 Die Rolle von Glutamat bei Genese und Therapie von affektiven Störungen.....	40
1.4.2.2 Studien zur Assoziation von GRM3 und rs6465084 mit affektiven Störungen.....	43

1.4.3 GRM3 und Kognition.....	45
1.4.3.1 Aufgabe der mGluR3 bei den kognitiven Funktionen.....	45
1.4.3.2 Studien zur Assoziation von GRM3 und kognitiven Phänotypen.....	47
1.4.4 Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen bei GRM3.....	53
1.4.5 GRM3 und Pharmakologie.....	54
1.4.5.1 Der metabotrope Glutamatrezeptor 3 als Zielstruktur von Pharmaka.....	54
1.4.5.2 Studien zur Assoziation von GRM3 und Medikamentenwirkungen .....	54
1.5 Fragestellung dieser Studie.....	57
2 Material und Methoden.....	58
2.1 Studienmodalitäten.....	58
2.2 Klinisches Interview.....	59
2.3 Neuropsychologische Testung.....	60
2.3.1 Wortschatztest.....	60
2.3.2 Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Fassung.....	60
2.3.2.1 Die Subtests des HaWIE-R im einzelnen.....	61
2.3.2.2 Testauswertung.....	63
2.3.2.3 Gütekriterien.....	63
2.4 Laborverfahren.....	64
2.4.1 DNA-Extraktion.....	64
2.4.2 Einstellung der DNA-Konzentration.....	65
2.4.3 Genotypisierung.....	67
2.4.3.1 Prinzip der Hochdurchsatzgenotypisierung mit dem iPLEX-Verfahren.....	67
2.4.3.2 Der Einzelbasenpolymorphismus rs6465084.....	68
2.4.3.3 Multiplex-Assay-Design.....	68
2.4.3.4 Die konventionelle PCR.....	69
2.4.3.5 Die Einzelbasenextensionsreaktion (iPLEX-Reaktion).....	71
2.4.3.6 Messung der Extensionprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer.....	72
2.5 Statistische Auswertung.....	74
3 Ergebnisse.....	75
3.1 Beschreibung der Stichprobe.....	75
3.2 Assoziation der Genotypen des Polymorphismus rs6465084 mit den Ergebnissen des Intelligenztests.....	76
3.2.1 Vergleich der Genotypen AA, AG und GG.....	76
3.2.2 Vergleich der G-Homozygoten mit A-Allelträgern.....	77
3.2.3 Vergleich der A-Homozygoten mit den G-Allelträgern .....	79
3.3 Assoziation der Allele des Polymorphismus rs6465084 mit den Ergebnissen des Intelligenztests.....	81
3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	83

4 Diskussion.....	85
4.1 Inhaltliche Diskussion.....	85
4.1.1 Zusammenfassung der Fragestellung und der Ergebnisse.....	85
4.1.2 Bedeutung der Ergebnisse im Lichte bisheriger Forschungen.....	86
4.1.2.1 Einfluss des SNP rs6465084 auf Lernen und Gedächtnis.....	86
4.1.2.2 Richtung der Assoziation.....	90
4.1.2.3 Der Einfluss von rs6465084 auf psychiatrische Krankheiten.....	92
4.1.2.4 Der Beitrag von GRM3 zur Neurophysiologie der Kognition.....	93
4.1.2.5 Möglicher Wirkmechanismus des intronischen SNPs rs6465084.....	95
4.1.2.6 Gen-Gen und Gen-Umwelt-Interaktionen.....	97
4.1.2.7 Epigenetische und zeitliche Einflüsse.....	98
4.2 Diskussion der Methoden.....	99
4.2.1 Studiendesign: Kandidatengen-basierte Assoziationsstudie.....	99
4.2.1.1 Teststärke und Stichprobengröße.....	99
4.2.1.2 Populationsstratifikation und ethnische Abstammung der Probanden.....	100
4.2.2 Stichprobe: Rekrutierung und Einschlusskriterien.....	104
4.2.3 Psychometrische Verfahren, Intelligenztest.....	104
4.3 Ausblick.....	105
4.3.1 Komplexe Genetik kognitiver Phänotypen.....	106
4.3.2 Komplexität kognitiver Phänotypen.....	107
4.3.3 Heterogenität der Stichproben.....	108
4.3.4 Zukünftige Forschung.....	108
5 Literatur.....	109
Dank.....	128

## Zusammenfassung

Ein erheblicher genetischer Einfluss auf die interindividuelle Varianz der Intelligenz gilt heute als gesichert, wobei eine Vielzahl von beteiligten Genen angenommen wird. Assoziationsstudien stellen ein gutes Instrument dar, um den Einfluss einzelner genetischer Polymorphismen auf die allgemeine Intelligenz  $g$  und weitere kognitive Phänotypen zu untersuchen. Diese Studie folgt einem klassischen Kandidatengen-Ansatz: GRM3, das Gen des metabotropen Glutamaterezeptors 3, hat hohe biologische Plausibilität für einen Einfluss auf Gehirnfunktionen, die mit kognitiven Fähigkeiten in Zusammenhang stehen. Glutamat ist zusammen mit anderen Neurotransmittern entscheidend an der Signalübertragung im präfrontalen Cortex, dem limbischen System und den Basalganglien beteiligt. Diese Gehirnregionen sind essenziell mit kognitiven Funktionen wie Lernen und Gedächtnis, mit Emotionsverarbeitung und Affektregulierung verbunden. Die metabotropen Glutamaterezeptoren 3 tragen zur Feinabstimmung der Glutamatkonzentration und damit zur Steuerung dieser komplexen neuronalen Vorgänge bei. Bisherige genetische Assoziationsstudien zu GRM3 ergaben widersprüchliche Ergebnisse oder waren nicht replizierbar. Ein oft untersuchter Polymorphismus, der SNP (single nucleotide polymorphism) rs6465084, lieferte divergente Resultate. Er wurde bisher mit kognitiven Phänotypen bei gesunden Personen in Verbindung gebracht und war in einigen Untersuchungen auch mit einem erhöhten Risiko für Schizophrenie, bipolar affektive Störungen und Depression vergesellschaftet – Krankheiten, die mit kognitiven Defiziten einhergehen können.

In dieser hier vorgelegten Untersuchung konnte an einer Stichprobe von 1202 psychiatrisch gesunden Personen ein schwach signifikanter Einfluss von rs6465084 auf verbal-kognitive Leistungen festgestellt werden. Messinstrument für die Intelligenz war der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Fassung (HaWIE-R). Beim Untertest *Gemeinsamkeiten finden* war der homozygote Genotyp GG signifikant ( $p=0,049$ ) mit besserem Abschneiden assoziiert als die A-Allelträger; beim Verbal-Intelligenzquotienten war eine tendenzielle Assoziation nachweisbar ( $p=0,091$ ). In drei weiteren HaWIE-Untertests (*Allgemeines Wissen*,  $p=0,070$  bzw.  $p=0,060$ ; *Wortschatztest*,  $p=0,061$  und *Allgemeines Verständnis*,  $p=0,100$ ) waren Trends zur Signifikanz erkennbar. Hier war das G-Allel mit besserer kognitiver Leistung verbunden. Diesen Subtests ist gemeinsam, dass sie kognitive Phänotypen erfassen, die sprachliche Fähigkeiten, Wortschatz und die Fähigkeit zur Abstraktion im verbalen Bereich betreffen.

Damit ergänzt die vorliegende Studie bisherige Assoziationen dieses Gens mit der Kognition. In der Zukunft könnten die genomweite Suche nach neuen Kandidatengenen, funktionelle Untersuchungen zu physiologischen *pathways* und neuronalen Netzwerken sowie die Einbeziehung von Umwelteinflüssen und Epigenomik weitere Erkenntnisse bringen.

# 1 Einleitung

Menschen unterscheiden sich in ihrer Intelligenz. Die Differenzialpsychologie beschäftigt sich seit langem damit, ob und wie Intelligenz gemessen werden kann und wie Umwelt und Vererbung auf die individuelle Ausprägung von kognitiven Fähigkeiten einwirken. Die moderne Neurobiologie eröffnet immer genauere Kenntnisse der komplexen neuronalen Grundlagen der Kognition, der beteiligten Moleküle und Signalwege sowie der diesen Merkmalen zugrundeliegenden Genetik.

In dieser Arbeit wird ein Teilaspekt der postulierten genetischen Ursachen der Intelligenz näher untersucht. Der Neurotransmitter Glutamat ist einer der wichtigsten Signalüberträger in der Biologie des Gehirns und entfaltet seine Wirkung über verschiedene Rezeptortypen, die ihrerseits einer gewissen genetischen Variabilität unterliegen. Eine genetische Variante des metabotropen Glutamatrezeptors 3, der Einzelbasenpolymorphismus rs6465084 des GRM3-Gens, wird hier auf seine Assoziation mit der psychometrischen Intelligenz hin untersucht.

## 1.1 Kognitive Phänotypen

Kognitive Funktionen sind alle bewussten und unbewussten Vorgänge, die bei der Verarbeitung von organismusinterner und -externer Information ablaufen (Birbaumer & Schmidt 2010). Um sich dem komplexen Zusammenhang zwischen Genen und Intelligenz oder allgemeiner zwischen Genen und Kognition zu nähern, müssen die zu untersuchenden kognitiven Phänotypen zunächst genau beschrieben werden (Überblick z. B. bei: Dickinson & Ellevåg 2009; Harris & Deary 2011). Die Intelligenz wird in der Biologie und auch in der Psychologie als ein Teil des Verhaltens verstanden und ist, wie jedes Verhalten, zum Teil angeboren und zum Teil erlernt (Kempf & Weinberger 2009). Geistige Fähigkeiten können als Phänotypen, also Merkmale, die individuell unterschiedlich ausgeprägt sind und erblichen Einflüssen unterliegen, betrachtet werden. Die Unterschiede in ihrer Ausprägung werden sowohl durch die genetische Variation (den Genotyp) als auch durch Umweltfaktoren beeinflusst.

Die Intelligenz ist ein Phänotyp, der eine erhebliche Variationsbreite aufweist. Sie setzt sich aus einzelnen Teilaspekten zusammen, die genauer beschrieben und in psychometrischen Tests gemessen werden können. Untereinander sind diese Teilbereiche meist korreliert und können in verschiedene Systematiken geistiger Fähigkeiten eingebunden werden. Dies ist die Domäne der Verhaltensforschung und vor allem der Differenzialpsychologie. Die Neurobiologie dagegen befasst sich mit kognitiven Phänotypen, indem sie die Physiologie des Gehirns charakterisiert, die an der Kognition beteiligten Gehirnregionen zu identifizieren versucht und die neuronalen Systeme und Schaltkreise, die den geistigen Funktionen zugrunde liegen, beschreibt. Ausgehend von

bekannten Funktionsmodellen des Gehirns, zum Teil auch von kognitiven Veränderungen, die durch psychiatrische Krankheiten oder Gehirnläsionen ausgelöst werden, und mit Hilfe der Bildgebung werden physiologische Messgrößen als Phänotypen innerhalb einer bestimmten kognitiven Funktion, zum Beispiel des Arbeitsgedächtnisses, untersucht. Das Verständnis der genetischen und neurobiologischen Komplexität des Phänotyps ist eine Voraussetzung, um genetische Einflüsse auf die Intelligenz zu untersuchen.

### 1.1.1 Die allgemeine Intelligenz *g*: ein wichtiger Phänotyp in der Verhaltensgenetik

Verhaltensgenetische Studien basieren auf Merkmalen, die valide und reliabel gemessen werden können. Dazu gehören kognitive Fähigkeiten wie zum Beispiel Gedächtnis, sprachliche Fähigkeiten, räumliches Vorstellungsvermögen und Verarbeitungsgeschwindigkeit, die in psychometrischen Tests erfasst werden können. Die Ergebnisse der verschiedenen Tests sind, wenn auch in unterschiedlichem Maße, untereinander korreliert. Für etwa die Hälfte der Streubreite der Testergebnisse wird eine allgemeine kognitive Fähigkeit, *g* (general intelligence) oder *g*-Faktor genannt, verantwortlich gemacht (Überblick z. B. bei: Deary et al. 2009; Harris & Deary 2011; Deary 2012; Posthuma et al. 2009). Durch diese allgemeine Intelligenz *g* wird, so die zugrundeliegende Idee, die gesamte Breite der kognitiven Prozesse gut erfasst, da *g* eine Gruppe von kognitiven Funktionen repräsentiert, die allen Intelligenzaufgaben gemeinsam ist. Ein Intelligenztest, der die allgemeine Intelligenz *g* gut misst, ist zum Beispiel der Raven-Test oder der im klinischen Bereich weit verbreitete WAIS (Wechsler *adult intelligence scale*, deutsche Fassung: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HaWIE), Tewes 1994); für die genaue Testbeschreibung siehe Punkt 2.3.2).

### 1.1.2 Exkurs: Intelligenz in der Differenzialpsychologie

Seit der ersten Beschreibung der allgemeinen Intelligenz *g* vor über einem Jahrhundert war sie Gegenstand kontroverser Debatten. Verschiedene Schulen bestritten ihre Existenz völlig oder entwickelten veränderte Konzepte. Die Vorstellungen über das psychologische Konstrukt „Intelligenz“ und seine Messbarkeit veränderten sich über die Jahrzehnte hin. Heute existieren parallel zueinander verschiedene psychologische Intelligenzkonzepte und Messmethoden (Asendorpf 2007; Deary et al. 2009; Lohaus et al. 2010).

#### 1.1.2.1 Geschichte der Intelligenzmessung

Die erste Phase der Intelligenzforschung, am Ende des 19. Jahrhunderts, umfasste vor allem Sinnes- und Gedächtnisprüfungen. Francis Galton, Vetter von Charles Darwin, wollte damit prüfen, ob intellektuelle Fähigkeiten ähnlich wie z. B. Körpergröße normalverteilt sind. Er entwickelte eine



Vorform des Korrelationskoeffizienten (Galton 1888), der später von seinem Schüler Karl Pearson zum heutigen Korrelationskoeffizienten weiterentwickelt wurde. Es zeigte sich aber, dass die Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Tests sehr gering waren. Ähnlich waren auch die Ergebnisse bei der Testung nordamerikanischer Studenten: Sinnes- und Gedächtnisleistungen korrelierten nicht mit dem Studienerfolg (Cattell & Farrand 1896).

Einen neuen Weg bot der Ansatz von Alfred Binet (Binet & Henri 1895), der nach dem Aggregationsprinzip arbeitete: Es gab mehrere Aufgaben, zu deren Lösung verschiedene intellektuelle Fähigkeiten nötig waren. Der erste Intelligenztest für Kinder, den Binet und der Arzt Théodore Simon im Jahr 1905 (Binet & Simon 1905) entwickelten, arbeitete nach dem Prinzip, die Leistung eines Kindes mit der alterstypischen Leistung zu vergleichen. Dieser Test sollte die Frage beantworten, für welche der getesteten Kinder eine besondere schulische Förderung nötig war. Der Test wurde 1916 von Lewis Terman in den USA weiterentwickelt und ist als Stanford-Binet-Test bekannt.

William Stern führte 1912 den Intelligenzquotienten IQ aus Intelligenzalter IA durch Lebensalter LA ein (Stern 1912):

$$IQ = 100 \cdot \frac{IA}{LA}$$

*Sterns Definition des Intelligenzquotienten*

Damit konnte das Problem gelöst werden, dass die gleiche Abweichung des Intelligenzalters vom Lebensalter zu verschiedenen Alterszeitpunkten unterschiedlich zu bewerten ist: Ein Zehnjähriger mit einem Intelligenzrückstand von zwei Jahren liegt gerade noch im Normbereich, bei einem Vierjährigen würde das jedoch schon große Defizite signalisieren. Allerdings ist diese Art der Berechnung nur dann sinnvoll, wenn die Leistung im Intelligenztest mit wachsendem Alter linear zunimmt. Nach heutigem Wissen verringert sich der Zuwachs jedoch im Laufe des Lebens, um im Alter von 17 Jahren ein Plateau zu erreichen.

Daher verließ David Wechsler (Wechsler 1939) das Konzept des Binetschen Intelligenzalters und normierte seinen Test innerhalb jeder Altersstufe. In diesem bis heute gültigen Konzept wird der IQ-Wert formal bestimmt durch die Verteilungseigenschaften von Intelligenzwerten, die nahezu einer Normalverteilung entsprechen. Die individuellen Testergebnisse einer Person werden zu einer Bezugsnorm ins Verhältnis gesetzt. Die Normierung des Tests erfolgt über repräsentative Stichproben. Innerhalb der Normstichprobe werden in der Regel Altersgruppen und teilweise auch getrennte Geschlechtergruppen gebildet.

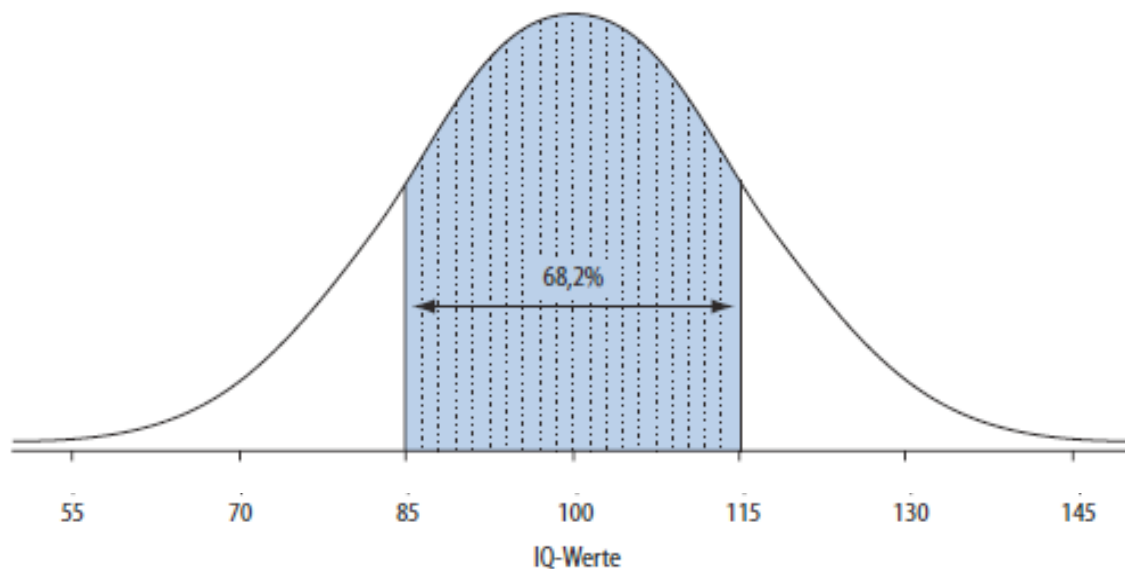


Abbildung 1.1: Normalverteilung des Intelligenzquotienten (IQ) mit dem Mittelwert 100 und der Standardabweichung 15.

Quelle: modifiziert nach Asendorpf 2007.

Typische Intelligenztests bestehen aus mehreren Untertests. Für die Lösung jeder einzelnen Testaufgabe werden ein oder mehrere Punkte vergeben, die dann über alle Aufgaben summiert werden. Diese Rohwerte werden mit der Verteilung der Rohwerte in der entsprechenden Altersgruppe verglichen. Der IQ wird berechnet nach der Formel:

$$Q = 100 + 15 \cdot \frac{x - M}{SD}$$

*heutige Definition des Intelligenzquotienten*

*x: Rohwert; M: Mittelwert der Rohwerte in Normstichprobe; SD: Standardabweichung der Rohwerte in Normstichprobe.*

Dass für den Mittelwert in allen Altersklassen der Wert 100 und für die Standardabweichung der Wert 15 gewählt wird, hat historische Gründe: Sterns Intelligenzquotient für die Binet-Aufgaben hatte einen Mittelwert nahe 100 und eine Standardabweichung von etwa 15. Man spricht auch heute noch von einem Intelligenz-“Quotienten“, obwohl es sich nicht mehr um den Sternschen Quotienten handelt.

Voraussetzung der normorientierten Intelligenzmessung ist, dass die Normstichprobe repräsentativ für die jeweilige Population ist und dass die Verteilung der Rohwerte zeitlich gesehen stabil ist. Es zeigte sich allerdings, dass die Rohwerte in den westlichen Gesellschaften im zwanzigsten Jahrhundert ständig zunahmen, nicht jedoch die Schulleistung. Man nennt dies nach dem Erstbeschreiber den Flynn-Effekt (Flynn 1984; Flynn 1987) oder säkularen Trend des IQ; zurückzuführen ist er

wahrscheinlich (ebenso wie die parallel dazu beobachtete Zunahme der Körpergröße) auf Umwelteinflüsse wie verbesserte Lebensbedingungen für Schwangere und Kleinkinder, denn für eine genetisch bedingte Entwicklung findet die Veränderung zu schnell statt (Asendorpf 2007; Bouchard & McGue 2003). Der säkulare Trend führt dazu, dass IQ-Mittelwerte den Wert 100 überschreiten, wenn die Testnormierung schon länger zurückliegt. Daher sind regelmäßige Neunormierungen nötig.

### 1.1.2.2 **Überblick über verschiedene Intelligenztheorien**

Die Methodik der Intelligenzmessung ist seit Wechsler (1939) fast unverändert. Sie beruht auf der Annahme, dass es messbare Intelligenzfaktoren gibt. Streitpunkt ist jedoch nach wie vor die Frage, wie die kognitiven und intellektuellen Fähigkeiten des Menschen in ein Konzept gebracht werden können. So existieren heute verschiedene Intelligenzmodelle und -konzepte nebeneinander. Weit verbreitet und Grundlage der meisten Intelligenztests sind faktorielle Modelle, wobei Uneinigkeit über Anzahl, Art und Interdependenz der einzelnen Faktoren herrscht. Eine grobe Einteilung der Intelligenztheorien unterscheidet zwischen hierarchischer und nicht-hierarchischer Anordnung der Faktoren. Einige Intelligenzmodelle seien kurz vorgestellt.

#### **Charles Spearman: Zwei-Faktoren-Theorie und g-Faktor**

Charles Spearman ging in seiner erstmals 1904 formulierten Zwei-Faktoren-Theorie (Spearman 1904; Spearman 1927) davon aus, dass es eine allgemeine Intelligenz gibt, die sich auf die gesamte Denk- und Lernfähigkeit des Menschen auswirkt. Er nannte sie *general cognitive factor* (g-Faktor). Daneben postulierte er zusätzliche spezifische Begabungsfaktoren (s-Faktoren) für bestimmte Fähigkeiten, zum Beispiel für verbale oder logisch-mathematische Aufgaben. Die Leistungen in den verschiedenen Aufgaben eines Tests sind danach immer in hohem Maß von *g* und zusätzlich noch von der Ausprägung des jeweiligen s-Faktors abhängig. Korrelationen zwischen zwei Testverfahren werden durch das Ausmaß bestimmt, in dem beide Messverfahren den g-Faktor erfassen. Das Modell ist als Konzept bis heute einflussreich und lässt sich empirisch gut bestätigen: Es finden sich zahlreiche Belege dafür, dass die allgemeine Intelligenz positiv mit zum Beispiel schulischen Leistungen und beruflichem Erfolg korreliert.

#### **Louis L. Thurstone: Das Primärfaktorenmodell**

Spearman's g-Faktor war Gegenstand heftiger Kontroversen. Der prominenteste Gegenentwurf stammte von Louis L. Thurstone (1938), der ein nicht-hierarchisches Intelligenzmodell entwickelte, das auf dem Zusammenwirken mehrerer unabhängiger spezifischer Primärfaktoren basierte; Thurstone identifizierte neun, in späteren Modellen dann noch sieben *primary mental abilities* (Thurstone & Thurstone 1941). Dies sind *verbal comprehension*, *word fluency*, *number*, *space*, *memory*, *perceptual speed*, *reasoning* und als weiterer Faktor *closure* (Gestaltbildung). Ein auf

diesem Konzept basierender deutschsprachiger Test ist der Intelligenz-Struktur-Test 2000 R (Amthauer et al. 2001). Das Primärfaktorenmodell hält der empirischen Überprüfung nur teilweise stand: Trotz der postulierten Unabhängigkeit der Primärfaktoren zeigen sich Korrelationen zwischen ihnen (Myers 2008).

### **Joy Paul Guilford: Structure of Intellect**

Das *Structure of Intellect*-Modell von J. P. Guilford (Guilford 1956; Guilford & Paul 1967) geht von 120 Faktoren aus, die sich aus der Kombination von vier Informationsinhalten (figural, semantisch, symbolisch, verhaltensmäßig), fünf Operationen der geistigen Aktivität (Evaluation, konvergente Produktion, divergente Produktion, Gedächtnis, Kognition) und sechs Informationsprodukten (Einheiten, Klassen, Beziehungen, Systemen, Transformationen, Implikationen) ergeben.

### **Raymond Cattell: Kristalline und fluide Intelligenz**

Die von Raymond Cattell eingeführte und von John L. Horn weiterentwickelte Unterscheidung zwischen kristalliner und fluider Intelligenz (Cattell 1963; Horn 1989) bezieht das Vorwissen mit ein: Kristalline Intelligenz ist danach die Fähigkeit, erworbenes („kristallisiertes“) Wissen bei der Problemlösung anzuwenden und ist stark bildungs- und kulturabhängig; fluide Intelligenz ist die Fähigkeit, Probleme ohne Rückgriff auf spezielles Wissen zu lösen, und beinhaltet zum Beispiel die Fähigkeit zur Abstrahierung. Sie entspricht im wesentlichen dem g-Faktor. Ein typischer Test ist Cattell's *Culture-Fair*-Test.

### **John B. Carroll: Three-Stratum-Theorie**

Eine Verknüpfung der bisherigen Intelligenzmodelle versuchte J. B. Carroll (Carroll 1993) mit seiner *Three-Stratum*-Theorie. Dieses hierarchische Modell nimmt die Existenz einer übergeordneten allgemeinen Intelligenz an, in der Ebene darunter befinden sich acht Einzelfaktoren, die sich wiederum in viele spezifische Einzelfähigkeiten unterteilen lassen.

### **Adolf Otto Jäger: Berliner Intelligenzstrukturmodell**

Ein weiterer Versuch, eine umfassende Intelligenztheorie zu entwickeln, ist A. O. Jägers Berliner Intelligenzstrukturmodell (Jäger 1984): Die Aufgaben werden nach Informationsverarbeitungsprozessen, verarbeiteten Inhalten und erzeugten Ergebnissen in einem mehrdimensionalen Schema klassifiziert. Es ergeben sich zwölf spezifische Fähigkeiten, die durch die Untertests des Berliner Intelligenzstrukturtests (Jäger et al. 1997) einzeln erfasst werden und die nach vier Operationen (Bearbeitungsgeschwindigkeit, Merkfähigkeit, Einfallsreichtum, Verarbeitungskapazität) und drei Inhalten (figural-bildhaft, verbal, numerisch) sowie für die allgemeine Intelligenz aggregiert werden können.

### **Nichtverbale Intelligenztests**

Bei der Erforschung der individuellen Intelligenzunterschiede standen lange Zeit die zahlreichen Umwelteinflüsse, die einen Einfluss auf die Intelligenz haben können, wie sozialer und ökonomischer Status, Kinderzahl, Geschwisterposition, Zugehörigkeit zu einer ethnischen Minderheit oder Dauer des Schulbesuchs, im Mittelpunkt des Interesses. Um Intelligenztests weniger bildungs- und sozialschichtabhängig zu machen und ein reineres Maß der intellektuellen Kompetenz zu finden, wurde in zahlreichen Ansätzen versucht, wissensunabhängige Fähigkeiten durch nicht-verbale Tests zu erfassen. Beispiele sind der Progressive Matrizentest von Raven (Raven 1938) und der *Culture-Fair-Intelligence-Test*, (Cattell 1960; deutsche Fassung: Weiß et al. 1997). Nicht-verbale Tests korrelieren schwächer mit der sozialen Schicht als verbale; es bestehen aber dennoch deutliche Korrelationen zwischen verbaler und nichtverbaler Intelligenz, die wieder auf einen übergeordneten Faktor im Sinne des g-Faktors hindeuten.

### **Howard Gardner: Theorie der multiplen Intelligenzen**

Bis in die 70er Jahre des 20. Jahrhunderts wurden die musischen, kreativen und emotionalen Fähigkeiten eines Menschen bei der Intelligenzmessung außer Acht gelassen. Die Intelligenzmodelle beschränkten sich auf den eng gefassten schulisch-beruflich relevanten Bereich der kognitiven Leistungen, die vor allem sprachliche und logisch-mathematische Fähigkeiten umfassen und quantitativ gut messbar sind. Nun wurden weitaus umfassendere Modelle aufgestellt. Howard Gardners Theorie der multiplen Intelligenzen (Gardner 1983) bezieht auch musische, motorische und soziale Fähigkeiten mit ein. Er geht davon aus, dass es sieben voneinander unabhängige Intelligenzen gibt (sprachlich, musikalisch, logisch-mathematisch, visuell-räumlich, körperlich-kinästhetisch, sozial-interpersonal, sozial-intrapersonal). Gardners Modell findet in der pädagogischen Praxis großen Anklang, empirisch lässt es sich jedoch nur schwer belegen (Visser et al. 2006). Es ist eher eine Theorie der Kompetenzen und Fähigkeiten, bei denen der bisherige enge Intelligenzbereich nur einen Teil darstellt.

### **Robert Sternberg: Triarchisches Modell der Intelligenz**

Robert Sternbergs Ansatz befasst sich mit den bei der Informationsverarbeitung ablaufenden kognitiven Prozessen bezieht und das Alltagshandeln mit ein. Sein triarchisches Modell geht von drei voneinander abhängigen Komponenten der Intelligenz aus (Sternberg 1985). Für ihn ist Intelligenz vor allem dadurch gekennzeichnet, dass Menschen im Leben erfolgreich sind. Ihren Erfolg erreichen sie durch analytische, praktische und kreative Fähigkeiten. Die analytischen Fähigkeiten (komponentenbezogene Intelligenz) entsprechen den klassischen Komponenten der Intelligenz und unterteilen sich in drei kognitive Mechanismen intelligenten Handelns: Metakomponenten (zum Beispiel Problemerkennung, Strategiewahl, Planung und Kontrolle), Ausführungskomponenten (zum Beispiel die Lösung einer bestimmten mathematischen Aufgabe) und Wissens-

erwerbskomponenten (zum Beispiel die Aufmerksamkeit auf relevante Informationen richten und Verknüpfungen zwischen Informationen herstellen). Die praktischen Fähigkeiten (kontextuelle oder praktische Intelligenz) nach Sternberg sind die individuellen Fähigkeiten, mit denen Alltagsprobleme gelöst und die Umwelt gestaltet wird (z. B. einen Konflikt mit dem Vorgesetzten anders lösen als den mit dem Partner). Kreative Fähigkeiten (erfahrungsbezogene Intelligenz) schließlich beziehen sich auf intelligentes Handeln beim Austausch zwischen neuen Anforderungen und bestehenden Erfahrungen und automatisierten Denk- und Handlungsabläufen. Unterschiede in der Intelligenz liegen danach an quantitativen (nicht qualitativen) Unterschieden in der Effektivität, mit der die Komponenten ausgeführt werden und am harmonischen Zusammenwirken der einzelnen Komponenten.

Dieser kurze Überblick, der keineswegs vollständig ist, macht klar, dass es in der heutigen Differenzial- und Persönlichkeitspsychologie nach wie vor verschiedene Richtungen bei der Beschreibung und Definition von Intelligenz gibt und dass auch bei der Entwicklung und Begründung von psychometrischen Tests verschiedene theoretische Modelle nebeneinander stehen, was dazu geführt hat, dass heute hunderte von Tests existieren. Für die Verhaltensgenetik ist die allgemeine Intelligenz  $g$  heute das dominierende Modell.

### 1.1.3 Weitere kognitive Phänotypen

Neben der allgemeinen Intelligenz  $g$  werden in neuropsychologischen genetischen Studien auch speziellere kognitive Phänotypen, die gut mit  $g$  korrelieren, untersucht. Dazu gehören zum einen die Phänotypen, die in den einzelnen Untertests der klassischen psychologischen Intelligenztests erfasst werden. Diese Merkmale können weiter differenziert und getestet werden (Abbildung 1.2). Auf jeder dieser Ebenen können die genetischen Einflüsse auf die Varianz der Testergebnisse untersucht werden. Die allgemeine Intelligenz  $g$  kann zum anderen auch auf verschiedenen neurobiologischen und anatomischen Zwischenstufen zwischen Gen und Kognition in sogenannte intermediäre Phänotypen (Endophänotypen) zerlegt werden. Dies sind quantitative Messgrößen für Unter-Merkmale, deren Genetik als weniger komplex angenommen wird (Gottesman & Gould 2003; siehe auch: Congdon et al. 2010; Meyer-Lindenberg & Weinberger 2006; Meyer-Lindenberg 2010; Pietropaolo & Crusio 2011; Rasetti & Weinberger 2011; Wagner & Petrovsky 2010).

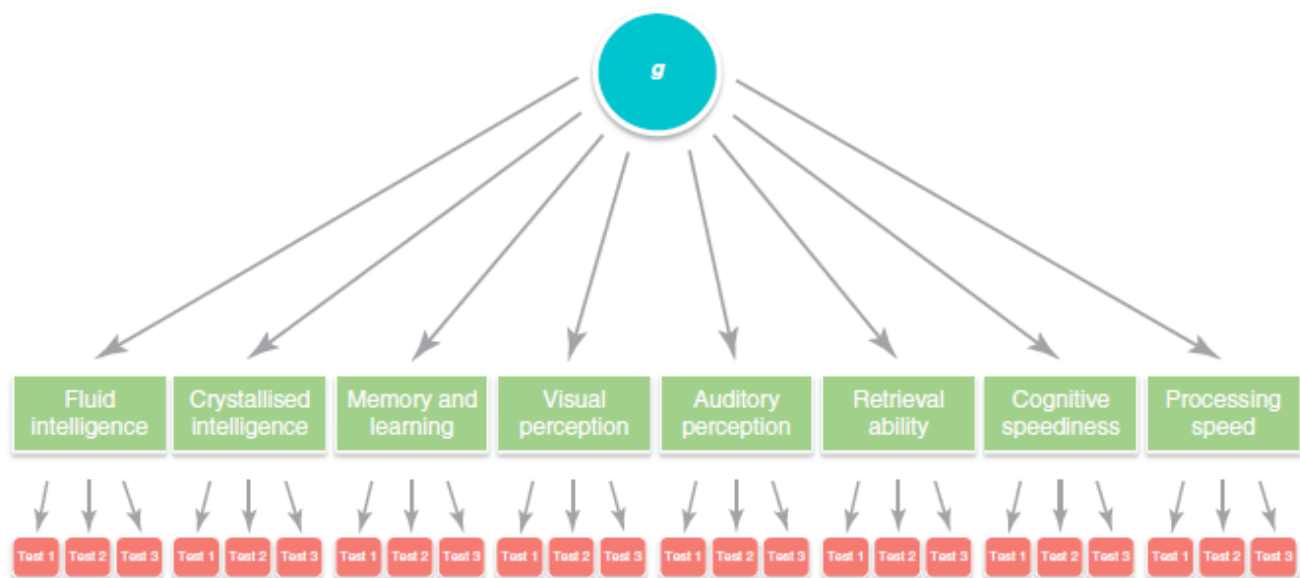


Abbildung 1.2: Ein Schema der psychometrischen Struktur der Intelligenz aus der Differenzialpsychologie (nach Carroll). Interindividuelle Varianz existiert danach auf drei Ebenen: allgemeine Intelligenz  $g$ , kognitive Funktionsbereiche (Gruppenfaktoren) und testspezifische Varianz.

Quelle: nach Harris & Deary, 2011.

Zu den untersuchten Merkmalen gehören höhere kognitive Funktionen wie Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Sprachverarbeitung und Exekutivfunktion sowie Basisfunktionen der Gehirnleistung wie Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit und Wahrnehmung.

### Lernen und Gedächtnis

Das Gedächtnis ist ein wichtiger Intelligenzfaktor und kann weiter differenziert, untersucht und gemessen werden. Beteiligte Gehirnregionen sind unter anderem der frontale und temporale Cortex und der Hippocampus. Beim Erwerb von Wissen wird zwischen Kurz- und Langzeitgedächtnis unterschieden. Das Kurzzeit- oder Arbeitsgedächtnis (*working memory*) hat nur eine begrenzte Speicherkapazität und ist in den dorsolateralen Anteilen des präfrontalen Cortex angesiedelt. Es bezeichnet die Fähigkeit, ankommende Informationen ausreichend lange aktiv zu halten, während sie mit bestehenden Informationen verglichen und in mentale Repräsentationen umgesetzt („enkodiert“) werden. Testpsychologisch kann das Arbeitsgedächtnis beispielsweise durch den *N-back-Test* (Dickinson & Elvevåg 2009; Birbaumer & Schmidt 2010) oder durch die Aufgabe *Zahlennachsprechen* des HaWIE-R erfasst werden.

Information aus dem Arbeitsgedächtnis kann im Langzeitgedächtnis konsolidiert werden. Im Langzeitgedächtnis unterscheidet man deklaratives von nicht-deklarativem (prozeduralem) Wissen. Auch diese Einheiten können weiter gegliedert und bestimmten Gehirnregionen zuge-

ordnet werden. Das episodische Gedächtnis ist vor allem im medialen Temporallappen lokalisiert, wobei der Hippocampus, in Interaktion mit dem präfrontalen Cortex, eine entscheidende Rolle bei Enkodierung und Abrufen von Informationen hat. Es wird durch Tests erfasst, in denen die Probanden sich an ein Ereignis oder einen Stimulus erinnern müssen, der früher im Experiment präsentiert worden war. Das episodische Gedächtnis kann noch weiter in seine zeitlichen Phasen, die durch sofortige und zeitversetzte Erinnerungsfähigkeit gemessen werden, aufgeteilt werden (Rasch et al. 2010; Papassotiropoulos et al. 2011; Bearden et al. 2012).

Die Aufmerksamkeit als kognitiver Phänotyp wird zum Beispiel durch den *Trail-making-Test* (Reitan 1958) geprüft. Der *Stroop-Color-Naming-Test* (Stroop 1935) prüft die selektive Aufmerksamkeit, kognitive Flexibilität und Verarbeitungsgeschwindigkeit. Darüber hinaus existieren zahlreiche weitere *Continuous Performance Tasks*, durch die beispielsweise die selektive Aufmerksamkeit, die Daueraufmerksamkeit oder die Impulsinhibition erfasst werden (Riccio et al. 2001).

### **Exekutivfunktionen**

Häufig untersuchte kognitive Phänotypen sind die sogenannten Exekutivfunktionen. Unter diesem Oberbegriff werden in der kognitiven Neuropsychologie komplexe höhere kognitive Funktionen zusammengefasst, die verschiedene Subprozesse koordinieren und integrieren, um flexibles und planvolles Handeln zu ermöglichen. Neben dem Arbeitsgedächtnis gehören dazu unter anderem Aufmerksamkeitssteuerung (*attentional control*), Reaktionsinhibition, Entwicklung und Anpassung von Handlungs- und Verhaltensstrategien, Konfliktmanagement und Problemlösungsfähigkeit. Die Exekutivfunktionen können durch den *Wisconsin-Card Sorting-Test* (Heaton et al. 1993) oder durch den Untertest *Bilderordnen* des HaWIE-R getestet werden.

### **Bildgebung**

Die fortschreitende technische Entwicklung der Neurobildgebung hat zur Beschreibung zahlreicher neuer intermediärer Phänotypen, auch auf neuronaler Ebene, geführt. Dazu gehören Merkmale, die in vivo durch das Messen von neuronalen Funktionen in der Bildgebung erfasst werden können. Die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) macht die Sauerstoffanreicherung des Gewebes, die auf die Aktivierung bestimmter Gehirnregionen hindeutet, sichtbar. Mit der <sup>1</sup>H-Magnetresonanzspektroskopie kann die Dichte neurochemischer Substanzen im Nervengewebe gemessen werden, die als Marker metabolischer Prozesse dienen. So können statistische Karten der Gehirnaktivität von Individuen und Gruppen erstellt werden, während sie bestimmte kognitive Aufgaben ausführen (Blasi & Bertolino 2006; Luders et al. 2009; Marengo & Radulescu 2010). Wichtige untersuchte Hirnregionen für die Kognition sind unter anderem der präfrontale Cortex, Teile des Temporallappens und das limbische System mit Hippocampus und Amygdala und zunehmend auch Netzwerke und Verbindungen zwischen verschiedenen Gehirnregionen.



Strukturelle und funktionelle Unterschiede in Gehirnregionen, die für die Kognition relevant sind, können mit Intelligenzunterschieden in Verbindung gebracht werden. Auch neuroanatomische Messgrößen (zum Beispiel Cortexdicke, Volumen der grauen und weißen Substanz oder des Hippocampus) sowie zeitliche Entwicklungs- und Alterungsmuster (Payton 2009) können untersucht werden. Die so gemessenen Variablen können dann auf ihre Assoziation mit verschiedenen Allelvarianten hin überprüft werden.

Voraussetzung für die Untersuchung von kognitiven Phänotypen ist immer, dass es Testmethoden gibt, die das Merkmal erfassen und quantifizieren können. Es ist kaum möglich, eine Systematik der Gehirnfunktionen zu erstellen, bei der jede dieser Funktionen durch Tests abbildbar wäre. Als kognitive Phänotypen stehen also vor allem die Messgrößen aus etablierten psychologischen Testverfahren und eine zunehmende Anzahl von Bildgebungsphänotypen, vor allem die Aktivierungsmuster bestimmter Gehirnregionen, zur Verfügung (Harris & Deary 2011; Congdon et al. 2010).

## **1.2 Genetik kognitiver Fähigkeiten**

Intelligenz ist ein komplexes Merkmal. Als komplexes Merkmal bezeichnet man eine quantifizierbare Größe eines Organismus, die durch viele Variablen beeinflusst wird: durch verschiedene Gene, die Interaktion dieser Gene untereinander, durch zahlreiche Umweltfaktoren und durch die Interaktion zwischen Umwelt und Genen (Kempf & Weinberger 2009; Papassotiropoulos & de Quervain 2011).

Überlegungen zur Erbllichkeit der Intelligenz wurden bereits in den Anfängen der Intelligenzforschung angestellt – schon Francis Galton nahm an, dass herausragende geistige Fähigkeiten angeboren seien und durch Vererbung weitergegeben würden (Galton 1865). Heute wird davon ausgegangen, dass ein erheblicher Teil der Variationsbreite der allgemeinen Intelligenz  $g$  genetisch bedingt ist.

### **1.2.1 Quantitative Verhaltensgenetik**

In der quantitativen Verhaltensgenetik wird untersucht, inwieweit individuelle Unterschiede bei psychometrisch messbaren neuropsychologischen Funktionen genetisch bedingt sind und welchen Beitrag exogene Faktoren leisten.

### 1.2.1.1 **Abschätzung des erblichen Anteils durch Zwillings- und Adoptionsstudien**

Um zwischen dem genetisch bedingten Anteil der Intelligenz und den Einflüssen von Umweltfaktoren (oder, wie Galton es formulierte, „*between the effects of nature and nurture*“, (Galton 1865) zu differenzieren, werden traditionell Zwillings- und Adoptionsstudien herangezogen (Bouchard 2009; Johnson et al. 2011; Lohaus et al. 2010; Wüst & de Geus 2011). Diese können die Relevanz von genetischen und umweltbedingten Einflüssen abschätzen, ohne die einzelnen beitragenden Gene identifizieren zu können. Als Erblichkeit oder Heritabilität wird der Anteil an der Varianz eines Phänotyps bezeichnet, für den genetische Einflüsse verantwortlich sind.

#### **Zwillingsstudien**

In Zwillingsstudien werden monozygote Zwillinge, deren genetische Übereinstimmung nahezu 100% beträgt, mit dizygoten Zwillingen verglichen, deren genetische Übereinstimmung, wie bei anderen Geschwistern, bei rund 50% liegt. Zusätzlich wird häufig noch unterschieden, ob die Zwillinge zusammen aufgewachsen sind – also unter gleichen Umweltbedingungen – oder getrennt. Wichtige Beiträge zur Differenzierung genetischer von Umwelteinflüssen auf die Intelligenz leisteten die *Minnesota Study of Twins Reared Apart* und die *Swedish Adoption Twin Study* (Bouchard et al. 1990; Pedersen et al. 1992).

#### **Adoptionsstudien**

In Adoptionsstudien werden zum einen die Ähnlichkeiten von Kindern, die in fremden Familien aufwuchsen, mit ihren biologischen Eltern untersucht, und zum anderen mehrere Kinder unterschiedlicher biologischer Herkunft verglichen, die in dieselbe Familie adoptiert wurden. So können Umwelteinflüsse gut von genetischen Einflüssen unterschieden werden. Dabei geht man davon aus, dass die genetische Übereinstimmung zwischen biologischen Eltern und ihren Kindern bei etwa 50% liegt, zwischen fremden Personen der Verwandtschaftsgrad jedoch nahe null ist. Besonders interessant ist auch die Kombination beider Verfahren, also die Untersuchung von monozygoten Zwillingen, die in unterschiedlichen Adoptionsfamilien aufgewachsen sind.

Es ergeben sich dann Erblichkeitskoeffizienten zwischen 0 (keine Erblichkeit) und 1 (maximale Erblichkeit), (Überblick über statistische Verfahren bei Carlier & Roubertoux 2010; Wüst & de Geus 2011).

### 1.2.1.2 **Die Heritabilität kognitiver Phänotypen**

#### **Erblichkeit der allgemeinen Intelligenz $g$**

Etwa die Hälfte der Varianz von  $g$  geht nach heutiger Vorstellung auf genetische Faktoren zurück (Überblick z. B. bei: Deary et al. 2009; Posthuma et al. 2009), wobei nicht ein einzelnes Gen verantwortlich ist, sondern eine Vielzahl von Einzelgenen, die jeweils nur einen geringen Anteil

beitragen, zusammenwirken. Sowohl klassische ältere Studien als auch neuere Untersuchungen (Nichols 1976; Scarr & Weinberg 1977; Bouchard & McGue 1981; Bouchard et al. 1990; Pedersen et al. 1992; Plomin et al. 1997; Bouchard & McGue 2003; Plomin et al. 2008; Haworth et al. 2009a; Haworth et al. 2009b) zeigen einen erheblichen Einfluss der Genetik auf die Intelligenz. Die Erblichkeit von  $g$  liegt etwa bei 0,5; je nach Studie werden für  $g$  Werte zwischen 0,3 und 0,8 angegeben. Die große Bandbreite der Heritabilität von  $g$  erstaunt zunächst, ist aber systemimmanent, denn die Erblichkeit ändert sich im Laufe des Lebens: Der genetisch erklärbare Varianzanteil des Intelligenzquotienten steigt von etwa 30% im Kindesalter auf über 80% im Alter (McClearn u. a. 1997; McGue u. a. 1993; Bouchard & McGue 2003; Spinath u. a. 2003; Plomin & Spinath 2004; Poustka & Maier 2009; Bouchard 2009; Haworth u. a. 2009b; Johnson 2010); Umweltfaktoren haben im Kindesalter einen weitaus größeren Einfluss als in späteren Lebensjahren, in denen der Einfluss der Gene größer wird.

### **Erblichkeit weiterer kognitiver Phänotypen**

Ähnliche Erblichkeitskoeffizienten wurden auch für die großen Komponenten der Kognition ermittelt (Bearden et al. 2012; Deary et al. 2009; Finkel et al. 1995; Johnson et al. 2007; McClearn et al. 1997; Posthuma et al. 2001).

Eine naheliegende Erklärung für Intelligenzunterschiede zwischen Menschen ist die Größe des Gehirns. Verschiedene morphologische Maße wie Gehirnvolumen, Dicke des Cortex und Dichte und Integrität der weißen Substanz weisen eine hohe Erblichkeit auf und sind schwach positiv mit dem IQ korreliert. Die Korrelation zwischen IQ und Gehirnvolumen liegt bei  $r=0,30$  bis  $r=0,40$  (in Meta-Analysen bei etwa 0,33), diejenige zwischen IQ und Frontal-, Parietal- und Temporalkortex sowie Hippocampus bei etwa  $r=0,25$ ; die Korrelationen zwischen grauer Masse und IQ etwas höher ( $r=0,31$ ). Auch die corticale Dicke ist positiv zum IQ korreliert. Läsionen in der weißen Substanz sind ebenfalls korreliert. Diese morphologischen Größen und der IQ könnten den gleichen genetischen Hintergrund teilen (Überblick bei: Bearden et al. 2012; Deary et al. 2010; Posthuma et al. 2009). Auch die im Laufe des Lebens stattfindenden Veränderungen der Cortexdicke sind mit intellektuellen Fähigkeiten korreliert und unterliegen wohl gemeinsamen genetischen Einflüssen (Brans et al. 2010).

### **1.2.2 Molekulare Verhaltensgenetik**

Die molekulare Verhaltensgenetik untersucht, welche Gene eine Rolle bei der Vererbung von  $g$  spielen. Ziel ist es, Polymorphismen innerhalb des Genoms zu finden, die mit psychischen Funktionen oder Störungen assoziiert sind, und die physiologischen Mechanismen zu erkennen, durch die diese genetischen Varianten psychische Funktionen oder Dysfunktionen beeinflussen

(Überblick z. B. bei: Kempf & Weinberger 2009; Parasuraman & Jiang 2012; Wagner & Petrovsky 2010; Wüst & de Geus 2011).

Gene selbst kodieren nicht für Verhalten oder IQ-Werte. Genetische Varianten beeinflussen auf vielfältige Weise die physiologischen Gehirnfunktionen, die an kognitiven Vorgängen teilhaben. Gene operieren auf verschiedenen Ebenen: auf der Ebene des Genoms (viele beitragende Allele mit kleinem Einfluss), der Proteine (subtile molekulare Unterschiede), der Zellen, der neuronalen Systeme und Netzwerke (zum Beispiel durch unterschiedliche Informationsverarbeitung) und schließlich auf Verhaltens- und gesellschaftlicher Ebene. Interindividuelle Unterschiede können auf allen diesen Niveaus betrachtet und analysiert werden. Der Beitrag einzelner genetischer Varianten liegt nach heutigem Verständnis nicht nur in der veränderten Proteinkodierung, sondern auch im Einfluss auf Splicing, RNA-Transkription, Expression und Regulation des Gens (Überblick bei: Kempf & Weinberger 2009; Wüst & De Geus 2011).

Komplexe Merkmale wie die Intelligenz sind polygenetisch, das heißt, viele verschiedene genetische Varianten tragen gleichzeitig zur Ausprägung des Merkmals bei, wobei der Einfluss der einzelnen genetischen Variante nur gering ist. Dies ist biologisch plausibel, da an der Gehirnphysiologie (als der Grundlage kognitiver Prozesse) viele miteinander interagierende Signal- und Stoffwechselwege beteiligt sind, die jeder wiederum von vielen Genen gesteuert werden. Die Komplexität des zentralen Nervensystems führt auch zu genetischer Heterogenität, das heißt, der gleiche Phänotyp (z. B. ein bestimmter IQ-Wert) kann bei einzelnen Individuen durch unterschiedliche Kombinationen verschiedener Allelvarianten erzeugt werden (Deary et al. 2010).

Voraussetzung für moderne verhaltensgenetische Studien sind die Hochdurchsatz-Genotypisierung, mit der große Mengen an genetischen Informationen zugänglich gemacht werden können; weitere Voraussetzung sind geeignete Testmethoden für die untersuchten Merkmale bis hinunter auf die neuronale Ebene, um zur Identifizierung merkmalsassoziierter Moleküle und Signalwege und der ihnen zugrundeliegenden Gene zu gelangen; und nicht zuletzt braucht es Verfahren der Bioinformatik und statistische Methoden zur Analyse der vorliegenden Daten.

#### **1.2.2.1 Assoziations- und Kopplungsstudien**

Ob es Zusammenhänge zwischen einem genetischen Polymorphismus und dem Phänotyp – zum Beispiel der allgemeinen Intelligenz  $g$  – gibt, kann durch verschiedene Studiendesigns geprüft werden. Am häufigsten sind Assoziations- und Kopplungsstudien, die sich ergänzende Informationen liefern (Nicodemus & Zhang 2009; Rujescu 2010).

## **Kopplungsstudien**

Kopplungsanalysen werden besonders bei der Suche nach Risikogenen für psychiatrische Krankheiten wie zum Beispiel Schizophrenie eingesetzt. Mit ihnen können aussichtsreiche Gen-Lokalisationen identifiziert werden. Gesucht wird nach genetischen Markern, die bei mehreren betroffenen Individuen einer Familie überzufällig häufig vorkommen. Da benachbarte DNA-Abschnitte gemeinsam (gekoppelt) vererbt werden, liegt es nahe, dass der Marker in einem Genomabschnitt liegt, der auch ein für den untersuchten Phänotyp relevantes Suszeptibilitäts-gen enthält. Das Gen selber lässt sich mit dieser Methode in der Regel nicht bestimmen. Die identifizierte Region muss dann weiter sequenziert und untersucht werden. Mit Kopplungsstudien können vor allem Gene mit großem Effekt gefunden werden (Pietropaolo & Crusio 2011; Wagner & Petrovsky 2010).

## **Assoziationsstudien**

Assoziationsstudien (Hattersley & McCarthy 2005) analysieren die möglichen Zusammenhänge zwischen einzelnen Kandidatengenen und dem Phänotyp. Sie prüfen, ob bestimmte Varianten eines genetischen Polymorphismus in statistischem Zusammenhang mit quantitativen Merkmalen wie zum Beispiel der psychometrischen Intelligenz stehen. Für Assoziationsstudien sind große Stichproben von mehreren hundert Probanden nötig. Es können (bei genügend großen Stichproben) auch für Gene mit geringem Effekt signifikante Assoziationen zwischen bestimmten Genvarianten und komplexen Merkmalen hergestellt werden.

Die Molekulargenetik hat zwei große Ansätze für die Suche nach genetischen Faktoren für die normale Variation der Kognition: die hypothesenbasierte Suche nach sogenannten Kandidatengenen und die hypothesenfreie genomweite Suche nach assoziierten genetischen Polymorphismen.

### **1.2.2.2 Hypothesenbasierte Suche nach Genen für kognitive Funktionen („Kandidatengen“-Studien)**

Ein seit langem etabliertes Verfahren ist die gezielte Suche nach aussichtsreichen „Kandidaten“-Genen. Hypothesenbasierte Studien stützen sich häufig auf bekannte Neurotransmitter und neurotrophische Funktionen, auf die Bildgebung (*neuroimaging*), um neuronale Netzwerke zu finden, die an der Kognition beteiligt sind, und auf Pharmakologie und Neurophysiologie, um die Funktion der beteiligten Komponenten zu erkennen. Dabei gibt es verschiedene Kriterien für die Auswahl von Genen, die auf eine Assoziation zur Kognition zu überprüfen sind.

## **Biologie und physiologische Mechanismen**

Die biologischen Vorgänge, die mit dem Phänotyp in Zusammenhang stehen, liefern wichtige Ansatzpunkte für die Suche nach relevanten Genen. Man geht von den bekannten neurobiologischen Funktionen aus und versucht Gene zu identifizieren, welche diese beeinflussen. Besondere

Aufmerksamkeit richtet sich dabei auf die verschiedenen Neurotransmittersysteme, für die eine Beteiligung an den kognitiven Funktionen angenommen wird. Dazu gehören Dopamin, Glutamat, GABA, Acetylcholin und Calcium. Gene, die für Proteine kodieren, die zum Beispiel an Synthese, Freisetzung, Wiederaufnahme und Metabolismus dieser Transmitter beteiligt sind oder die als Transkriptionsfaktoren, Wachstumsfaktoren oder weitere Modulatoren dienen, kommen als Kandidatengene in Frage. Hilfreich sind auch Daten zur Genexpression in Gehirnregionen, die mit dem untersuchten kognitiven Phänotyp in Zusammenhang stehen (Kempf & Weinberger 2009).

### **Tiermodelle**

Tierversuche tragen wesentlich zum Verständnis der Biologie des Gehirns bei. Im Tiermodell, zumeist an Nagern, wird versucht, kognitionsassoziierte Phänotypen wie Lernen und Gedächtnis abzubilden (Papaleo et al. 2012). Mit Hilfe von Knock-out-Mäusen können beispielsweise Zusammenhänge zwischen Gendysfunktion und Phänotyp studiert und neurobiologische Funktionshypothesen überprüft werden.

### **Pharmakologie und Ätiologie psychiatrischer Krankheiten**

Weitere Gen-Kandidaten kommen aus der Erforschung psychiatrischer Krankheiten und der Pharmakogenetik. Für die Psychiatrie hat das Verständnis der Neurobiologie der Krankheitsentstehung und der Medikamentenwirkung große Bedeutung. Krankheiten wie M. Alzheimer, die bipolare affektive Störung oder die Schizophrenie gehen mit Phänotypen der kognitiven Beeinträchtigung einher, die auch bei nicht betroffenen Verwandten häufiger als im Bevölkerungsdurchschnitt vorkommen (Craddock & Sklar 2009). Daher sind die Risikogene dieser Krankheiten auch interessant für die Genetik der normalen kognitiven Funktion. Man geht dabei von der Annahme aus, dass die gleichen genetischen Variationen, die für die normale phänotypische Variation zuständig sind, auch die Vulnerabilität für neuropsychiatrische Störungen beeinflussen. Erfolgversprechende Kandidatengene werden aufgrund von neurophysiologischen Funktionshypothesen ausgewählt. So spielt das glutamaterge System eine wichtige Rolle für Lernen und Gedächtnis und ist nach gängiger Meinung an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt. Gene, die für Glutamatrezeptoren oder -transporter kodieren oder deren Produkte Einfluss auf den Glutamatmetabolismus haben, sind daher gute Kandidatengene für die Schizophrenie und auch für die Intelligenz (Überblick bei Deary et al. 2009; Potkin et al. 2009).

### **Genposition**

Genomregionen, die in Kopplungsstudien (siehe 1.2.2.1) mit dem untersuchten Merkmal in Zusammenhang gebracht wurden, können wichtige Gen-Kandidaten liefern.

### **Vorausgegangene Studien und Metaanalysen**

Große Bedeutung hat schließlich die Replikation oder auch Nicht-Replikation bereits berichteter Assoziationen durch weitere Studien. Mögliche Genkandidaten werden zunehmend durch hypothesenfreie genomweite Assoziationsstudien (GWAS) entdeckt. Die Zusammenfassung mehrerer unabhängiger Studien zu großen Metaanalysen mit höheren Stichprobenzahlen kann zur Identifizierung weiterer Risikoallele führen.

#### **1.2.2.3 Hypothesenfreie genomweite Suche nach Genen für kognitive Funktionen (genomweite Assoziationsstudien)**

In jüngster Zeit, etwa seit dem Jahr 2005, gewinnt die hypothesenfreie Suche nach assoziierten Polymorphismen an Bedeutung. Sie ist durch die Entwicklung von Hochdurchsatz-Genotypisierungstechniken möglich geworden. Dabei werden in Studiengruppen von mehreren tausend Personen von jedem Probanden bis zu zwei Millionen Einzelnukleotid-Polymorphismen (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs) quer durch das gesamte Genom als Marker genotypisiert und in Bezug auf eine Assoziation mit dem interessierenden Phänotyp getestet. Bei diesen genomweiten Assoziationsstudien (Hindorff et al. 2009, siehe auch <http://www.genome.gov/gwastudies/>) werden nicht bestimmte Kandidatengene untersucht, sondern es wird systematisch das gesamte Genom nach Assoziationen durchsucht. So können bisher noch nicht identifizierte Gene oder genetische Sequenzen gefunden werden, die mit dem untersuchten Merkmal in Zusammenhang stehen.

Häufig wird ein mehrschrittiges Studiendesign gewählt (Harris & Deary 2011). Zunächst werden pro Studienteilnehmer bis zu zwei Millionen SNPs genotypisiert. Im zweiten Schritt werden diejenigen SNPs (in der Regel bis zu einige hundert), die die besten Assoziationswerte hatten, an weiteren Individuen der Studienpopulation untersucht. Schließlich wird noch die Replikation signifikanter Assoziationen in einer unabhängigen Studienpopulation gefordert. Zeigen sich Genvarianten, die vermutlich in einem Kausalzusammenhang mit dem untersuchten Merkmal stehen, schließen sich weitere Studien an um herausfinden, welche physiologischen Mechanismen oder Pathologien durch diese Varianten beeinflusst werden.

Genomweite Assoziationsstudien sind besonders geeignet, um die Genetik komplexer Phänotypen und Krankheiten zu erforschen. Um auch seltene genetische Varianten zu entdecken und um statistische p-Werte zu erreichen, die klein genug sind, um die Korrekturen für multiples Testen zu überstehen, sind sehr hohe Probandenzahlen nötig. Für genomweite Signifikanz wird ein p-Wert von  $p \leq 5,0 \cdot 10^{-8}$  gefordert. Dabei wird für unwahrscheinliche Gene teilweise ein höheres statistisches Niveau gefordert als für Gene, die in einem bekannten biologischen Zusammenhang mit dem untersuchten Merkmal stehen. Eine Schwäche dieser Methode ist das hohe Risiko falsch-positiver Befunde durch Fehler I. Art (Nicodemus & Zhang 2009; Hattersley & McCarthy 2005).

#### 1.2.2.4 **Genetische Polymorphismen**

Die untersuchten molekulargenetischen Strukturen sind Sequenzvarianten des Genoms, sogenannte Polymorphismen. Sie müssen selbst nicht funktioneller Teil eines Gens sein, sondern können als Marker für funktionelle Varianten dienen. Die Aufmerksamkeit richtet sich dabei vor allem auf Einzelnukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNPs) und Strukturvarianten. Als SNP bezeichnet man definierte Basenpaare in der DNA-Sequenz, die sich im inter-individuellen Vergleich als variabel gezeigt haben, die sich also von Individuum zu Individuum in diesem Nukleotid unterscheiden können. Es gibt im menschlichen Genom nach aktuellen Schätzungen etwa 10 Millionen SNPs (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>), die sich an etwa einer von 100 bis 300 Positionen eines DNA-Strangs finden. SNPs können in kodierenden oder nicht-kodierenden Regionen liegen. SNPs in den Exons eines Gens können veränderte Genprodukte zur Folge haben, während über die Funktion von SNPs in Introns und nicht-kodierenden Sequenzen des Genoms noch wenig bekannt ist.

An einem gegebenen biallelischen Genlocus gibt es zwei mögliche Allele: *A* und *a*, und drei mögliche Genotypen: *AA* und *aa* als Homozygote und *Aa* als Heterozygot.

Genetische Unterschiede zwischen einzelnen Individuen bestehen aber nicht nur aus Varianten der Nukleotidsequenzen, sondern in erheblichem Umfang auch aus strukturellen Variationen des Genoms. Mikrosatelliten (zwei- bis vielfache Wiederholungen kurzer Basenfolgen), Inversionen langer chromosomaler Abschnitte, Deletionen oder Duplikationen einzelner DNA-Abschnitte im individuellen Genom sind häufige Phänomene (Yeo et al. 2011). Abweichungen in der Anzahl von Kopien eines chromosomalen Abschnitts werden Kopienzahlvarianten (*copy number variants*, CNV) genannt. Normalerweise gibt es zwei Kopien jeder autosomalen Region, eine auf jedem Chromosom. Wenn diese Segmente durch spontane oder ererbte Deletionen oder Duplikationen verändert sind, liegen sie statt zweifach gar nicht, nur einfach oder dreifach vor. CNVs können zwischen tausend und einige Millionen Basenpaare umfassen. Bisher sind mehrere tausend CNVs bekannt, die etwa 30 Prozent des menschlichen Genoms ausmachen und für einen großen Teil der genetischen Variabilität verantwortlich gemacht werden. CNVs werden unter anderem mit Schizophrenie, Autismus, mentaler Retardierung und Intelligenz in Zusammenhang gebracht (Casey et al. 2012; Conrad et al. 2010; Payton 2009; Yeo et al. 2011; Zhang et al. 2009).

Häufig werden Haplotypen statt einzelner SNPs getestet. Ein Haplotyp (Freudenberg et al. 2002) ist eine Kombination von Allelen an verschiedenen Loci eines Chromosoms. Er ist charakterisiert durch mehrere Varianten (meist SNPs) in einem kleinen chromosomalen Bereich, die nicht unabhängig voneinander sind, sondern in starkem Kopplungsungleichgewicht (*linkage disequilibrium*, LD) zueinander stehen und die gemeinsam vererbt werden. Das bedeutet, dass nahe beieinander



liegende SNPs in der Meiose nicht voneinander getrennt werden und gekoppelt an die nächste Generation weitergegeben werden. Daher kann aus dem Vorliegen eines Allels in einem SNP mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den Allel-Status eines zweiten SNPs in diesem Haplotyp geschlossen werden. Im Genom wechseln sich Blöcke mit hohem LD mit sogenannten *Hotspots* ab, in denen die Mehrzahl der Rekombinationen stattfindet. Die Haplotyp-Blockstruktur des Genoms ist ein Produkt der Evolution und zeigt in verschiedenen Populationen unterschiedliche Muster. Häufige Haplotypen können durch Genotypisierung einiger weniger Marker, sogenannter *tag SNPs*, identifiziert werden. So kann man Assoziationen eines Haplotyps mit einem Phänotyp ermitteln, auch wenn nur ein Teil der SNPs des Haplotyps tatsächlich genotypisiert wurde.

#### 1.2.2.5 **Molekulargenetik der psychometrischen Intelligenz**

Trotz der prinzipiellen Übereinkunft, dass Intelligenz zu einem erheblichen Teil erblich ist und trotz großer Fortschritte in der Molekulargenetik, ist bisher noch kein Genlokus bekannt, der eindeutig mit den Unterschieden der Intelligenz als Messgröße assoziiert wäre. Bisher identifizierte Genvarianten decken nur einen geringen Bereich der Varianz ab und waren nicht immer replizierbar (Deary et al. 2009).

Die allgemeine Intelligenz *g* scheint hochgradig polygen und polymorph zu sein. Einzelne Gene sind nur in sehr geringem Ausmaß für die Variabilität des Merkmals verantwortlich. Wie bei anderen quantitativen Merkmalen (z. B. Körpergröße) auch, liegen die Schätzungen für den Effekt einzelner genetischen Varianten bei weit unter einem Prozent der Varianz des Merkmals (Überblick bei Yeo et al. 2011; Bearden et al. 2012). Bei komplexen Merkmalen gibt es meist keine strenge Kausalität zwischen dem einzelnen Gen und der Messgröße, sondern das Gen trägt nur statistisch zur Merkmalsvarianz bei. Eine chromosomale Region, die statistisch zur Ausprägung polygen vererbter komplexer Phänotypen beiträgt, heißt *quantitative trait locus* (QTL; (Plomin et al. 2009). Angenommen wird das Zusammenwirken zahlreicher häufiger, zum großen Teil noch nicht identifizierter genetischer Variationen auf vielen Genorten, die jede für sich nur einen geringen Beitrag zur Variabilität von *g* leisten, die aber untereinander und mit Umweltfaktoren interagieren und in der Kombination zur Merkmalsvarianz beitragen. Es wurde postuliert, dass es eine (vermutlich sehr große) Gruppe von Generalistengenen (*set of generalist genes*) gebe, welche die Gehirnprozesse steuere, die für Kognition relevant sind, und die nicht nur *g*, sondern auch andere kognitive Fähigkeiten oder Defizite beeinflussen (Kovas & Plomin 2006; Butcher et al. 2006; Haworth & Plomin 2010). Einzelne genetische Varianten sind pleiotrop, sind also in verschiedene kognitive Prozesse eingebunden.

Verschiedene Studien konnten zwar Assoziationen zwischen einzelnen genetischen Polymorphismen und dem Intelligenzquotienten zeigen, die Assoziationen waren jedoch nur schwach und nicht

immer replizierbar (Überblick über bisherige Studien bei: Deary et al. 2009; Deary 2012; Harris & Deary 2011; Houlihan et al. 2009; Payton 2009). Bisher erbrachten vor allem Kandidatengene aus der Neurophysiologie und der Krankheitsätiologie statistisch signifikante Assoziationen zur Kognition, von denen hier nur einige der wichtigsten kurz erwähnt seien.

### **Apolipoprotein E (APOE)**

Eine replizierbare Assoziation zu kognitiven Funktionen hat das  $\epsilon 4$ -Allel des Apolipoprotein E-Gens (APOE). Apolipoprotein E ist beteiligt am Cholesterintransport und an neuronalen Reparaturmechanismen. Es ist mit schlechteren kognitiven Funktionen (allgemeine Intelligenz, episodisches Gedächtnis, Verarbeitungsgeschwindigkeit, Exekutivfunktion) bei gesunden Menschen im höheren Alter assoziiert und stellt auch einen Risikofaktor für die Alzheimer-Demenz dar (Small et al. 2004; Metaanalyse: Wisdom et al. 2011).

### **Catechol-O-Methyltransferase (COMT)**

Die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) baut Monoamine, darunter auch den Neurotransmitter Dopamin, ab. Der funktionelle Polymorphismus COMT-val158met führt zu einem Austausch von Valin zu Methionin an der Aminosäureposition 158. Er hat einen schwachen Einfluss auf den IQ, der auch in einer Metaanalyse (Barnett et al. 2008; Überblick bei Goldman et al. 2009) nachweisbar war, allerdings nur für 0,1% der Varianz. Das met-Allel in diesem Polymorphismus reduziert die Thermostabilität und Aktivität des Enzyms, so dass weniger Dopamin abgebaut wird und beeinflusst wahrscheinlich die Dopaminfunktion im präfrontalen Kortex (Posthuma et al. 2009; Dickinson & Elvevåg 2009).

### **Dystrobrevin-binding Protein 1 (DTNBP1)**

Eine Metaanalyse von Polymorphismen des DTNBP1-Gens, das auch als Risikofaktor für Schizophrenie gilt, ergab einen geringen Effekt zweier SNPs auf die Intelligenz (Zhang et al. 2010).

### **Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)**

Der Nervenwachstumsfaktor BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) ist vor allem mit dem hippocampus-abhängigen Gedächtnis assoziiert: Der funktionelle BDNF Val66Met-Polymorphismus führt zu einem Austausch von Valin zu Methionin an der Aminosäureposition 66. Das Met66-Allel ist in einigen Studien mit niedriger, in anderen mit hoher kognitiver Leistung assoziiert, was eventuell auf einen altersabhängigen Einfluss hinweist (Miyajima et al. 2008). Das BDNF-Gen ist äußerst komplex und unterliegt zahlreichen Interaktionen und Einflussfaktoren. Gut belegt ist eine Interaktion zwischen COMT und BDNF: COMT Val66-Träger schnitten schlechter in kognitiven Tests ab, wenn sie auch mindestens ein BDNF Met66-Allel hatten (Nagel et al. 2008).

**Synaptische heterotrimere G-Proteine**

Einen neuen Ansatz verfolgten Ruano und Kollegen (Ruano et al. 2010), indem sie Gene nach ihrer zellulären Funktion zu Gruppen zusammenfassten und die kombinierten Effekte dieser funktionellen Gengruppen analysierten. Sie konnten eine Assoziation der synaptischen heterotrimeren G-Proteine zum IQ herstellen.

**Genomweite Kopplungsstudien: Chromosomenregionen 2q und 6p**

Genomweite Kopplungsstudien für die allgemeine Intelligenz  $g$  und für weitere kognitive Phänotypen ergaben unter anderem Kopplungsregionen in den Chromosomen 2q und 6p (Buyske et al. 2006; Dick et al. 2006; Luciano et al. 2006; Posthuma et al. 2005; Wainwright et al. 2006): Dies sind Regionen, die bereits mit Autismus, Dyslexie und kognitiven Defiziten bei Schizophrenie in Verbindung gebracht wurden (Überblick bei: Posthuma et al. 2009).

**Genomweite Assoziationsstudien: nur sehr geringe Einflüsse einzelner SNPs**

Zwar ergab die genomweite Suche einige neue genetische Assoziationen, insgesamt zeigten sich aber nur sehr geringe Einflüsse auf die Intelligenz oder andere kognitive Phänotypen, wenn die üblichen genomweiten statistischen Signifikanzschwellen und die Forderung nach Replikation in einer unabhängigen Stichprobe beachtet werden. Ein SNP im KIBRA-Gen (das KIBRA-Protein interagiert mit weiteren Proteinen, die an der synaptischen Plastizität beteiligt sind) war mit Gedächtnisleistungen und einem erhöhten Risiko für M. Alzheimer assoziiert (Papassotiropoulos et al. 2006; Schaper et al. 2008). In einer Studie der Arbeitsgruppe um R. Plomin war ein aggregiertes Set von fünf SNPs signifikant mit der allgemeinen Intelligenz assoziiert, erklärte jedoch auch nur ein Prozent der Varianz des Merkmals (Butcher et al. 2008). Die Studie untersuchte dazu eine halbe Million SNPs und nutzte gepoolte DNA, das heißt, es wurden zwei DNA-Pools aus Probanden mit hohem beziehungsweise niedrigem IQ gebildet und verglichen. Mit ähnlicher Methodik konnte die Arbeitsgruppe die Assoziation eines 10-SNP-Sets mit mathematischen Fähigkeiten zeigen (Docherty et al. 2010). Neuere GWAS zur Kognition belegen zwar die prinzipielle Heritabilität der Intelligenz, zeigen aber entweder keinen oder einen nur geringen Einfluss einzelner Polymorphismen auf kognitive Phänotypen (Need et al. 2009; Davis et al. 2010; Cirulli et al. 2010; Davies et al. 2011; Papassotiropoulos et al. 2011).

**Copy number variations (CNV)**

Erste Hinweise auf einen Einfluss von CNVs auf die psychometrische Intelligenz zeigte eine Studie von Yeo et al. (2011), nach der Individuen mit seltenen Deletionen geringere IQ-Werte hatten.

Insgesamt sind die Ergebnisse zur Genetik der Kognition trotz der Fülle der bisherigen Studien noch lückenhaft. Da es nicht sehr wahrscheinlich ist, dass Polymorphismen mit großem bis middle-

rem Einfluss bisher noch nicht gefunden wurden, werden in Zukunft wohl Studien an sehr großen Fallzahlen, mit hochwertigen psychometrischen und genetischen Daten und unter Einbeziehung detaillierter Umwelteinflüsse und Gen-Interaktionen nötig sein.

### **1.3 Der metabotrope Glutamatrezeptor 3**

Das in dieser Arbeit untersuchte Gen GRM3 wirkt im glutamatergen System. Es kodiert für den metabotropen Glutamatrezeptor 3 (mGluR3 oder mGlu3).

#### **1.3.1 Der Botenstoff Glutamat**

Die Aminosäure L-Glutaminsäure, die unter physiologischen Bedingungen als Anion (Glutamat) vorliegt, ist ein klassischer Neurotransmitter. Glutamat ist der wichtigste exzitatorische Überträgerstoff im zentralen Nervensystem und spielt eine bedeutende Rolle bei der neuronalen Entwicklung, der Regulation der synaptischen Aktivität und der synaptischen Plastizität.

Das Zusammenwirken des glutamatergen Systems mit dopaminergen, serotonergen, GABAergen und weiteren Regelkreisen ist entscheidend für die normale Gehirnfunktion und für die Kognition. Durch seine Beteiligung an Formen der synaptischen Plastizität wie Langzeitpotenzierung und Langzeitdepression trägt Glutamat zu Lernen und Gedächtnis bei. Neuropathologien gehen häufig mit Störungen in dem komplexen glutamatergen System einher. Neuere pharmakologische Ansätze für die Therapie von Erkrankungen mit kognitiven Dysfunktionen richten sich daher auch auf die Beeinflussung des glutamatergen Systems.

#### **1.3.2 Die verschiedenen Glutamatrezeptoren**

Präsynaptisch freigesetztes Glutamat wirkt auf verschiedene prä- und vor allem postsynaptisch liegende Rezeptoren. Man kann zwei große Gruppen von Glutamatrezeptoren unterscheiden (Nicoletti et al. 2011; Moreno et al. 2009; Silbernagl & Despopoulos 2003): ligandengesteuerte (ionotrope) und G-Protein-gekoppelte (metabotrope) Glutamatrezeptoren. Zu den ionotropen Rezeptoren zählen NMDA-Rezeptoren (N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren), AMPA-Rezeptoren ( $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isloxazolpropionsäure-Rezeptoren) und Kainatrezeptoren. Von den metabotropen Glutamatrezeptoren (mGluR) sind bisher acht Untertypen bekannt: mGluR1 bis mGluR8, die nach Aminosäuresequenz, pharmakologischen Eigenschaften und intrazellulären Signalwegen in drei Gruppen eingeteilt werden (Conn & Pin 1997). Der in dieser Arbeit untersuchte Rezeptor ist metabotrop (G-Protein-gekoppelt) und gehört zur Gruppe II (Tabelle 1.1).

Tabelle 1.1: Überblick über die verschiedenen Typen von Glutamatrezeptoren.

Glutamatrezeptoren					
Ionotrope Glutamatrezeptoren			Metabotrope Glutamatrezeptoren		
NMDA-Rezeptoren	AMPA-Rezeptoren	Kainat-rezeptoren	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
			mGluR1 mGluR5	mGluR2 mGluR3	mGluR4 mGluR6 mGluR7 mGluR8
			gekoppelt an G <sub>q/11</sub> -Proteine	gekoppelt an G <sub>i/o</sub> -Proteine	
			aktivieren Phospholipase C	inhibieren Adenylatcyclase aktivieren K <sup>+</sup> -Kanäle inhibieren Ca <sup>++</sup> -Kanäle	

Die Gruppe I der metabotropen Glutamatrezeptoren umfasst mGluR1 und mGluR5, die an ein G<sub>q/11</sub>-Protein gekoppelt sind und die Phospholipase C aktivieren. Gruppe II (mGluR2 und mGluR3) und Gruppe III (mGluR4, mGluR6, mGluR7 und mGluR8) sind an G<sub>i/o</sub>-Proteine gekoppelt und hemmen die Adenylatcyclase. Mit Ausnahme der mGluR6-Isoform, die nur an retinalen ON-Bipolarzellen exprimiert wird, sind mGluRs im zentralen Nervensystem weit verbreitet.

Die metabotropen Glutamatrezeptoren sind seit den 1980er Jahren bekannt (Überblick bei: Harrison et al. 2008; Kniazeff et al. 2011; Moreno et al. 2009; Nicoletti et al. 2011). Die klinische und pharmakologische Forschung hat inzwischen eine ganze Reihe von subtypspezifischen Rezeptorliganden entwickelt, die als Therapeutika für verschiedene neurologische und psychiatrische Störungen, unter anderem Schizophrenie, M. Parkinson, Angststörungen und chronisches Schmerzsyndrom, erprobt werden (Harrison et al. 2008; Überblick z. B. bei Chaki 2010).

### G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

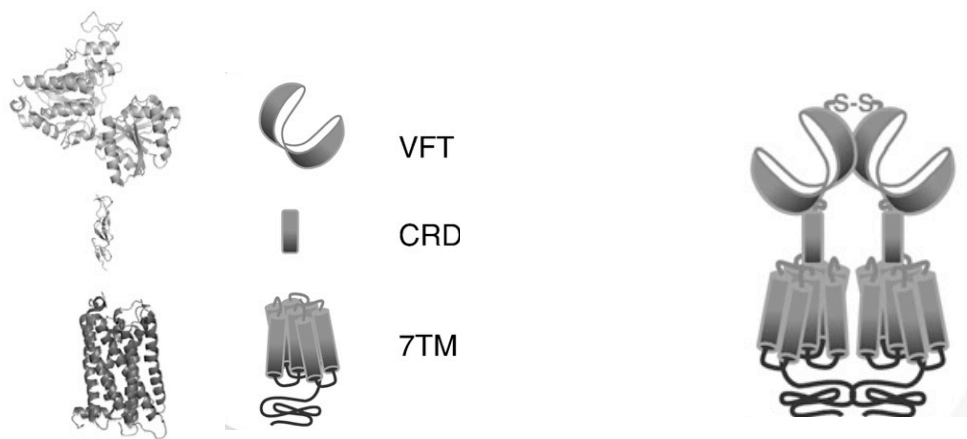
Der metabotrope Glutamatrezeptor 3 ist G-Protein-gekoppelt. Die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR, *G-protein-coupled-receptors*) sind die größte Gruppe von Rezeptoren der Zelloberfläche, die für die Signaltransduktion in das Zellinnere zuständig sind. Etwa 800 Gene, das sind über drei Prozent des menschlichen Genoms, kodieren für GPCRs (Kniazeff et al. 2011). Zahlreiche Hormone wie Adrenalin oder Glukagon und Neurotransmitter wie Serotonin oder Glutamat entfalten ihre Wirkung über GPCR, die dadurch wichtige Zielstrukturen der pharmakologischen Therapie sind. Die GPCR werden in drei Hauptfamilien (A, B und C) und zwei weitere Familien eingeteilt. Die metabotropen Glutamatrezeptoren gehören zur Gruppe C (<http://www.gpcr.org/7tm/>).

GPCRs sind gekoppelt mit einem Guaninnucleotid-bindenden Protein (G-Protein), welches die intrazelluläre Signaltransduktion durch ein *second messenger*-System vermittelt. Allen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gemeinsam sind eine extrazelluläre N-terminale Region, eine sieben  $\alpha$ -Helices umfassende transmembranäre Region und die intrazelluläre C-Terminus-Region. Die Ligandenbindungsstelle liegt extrazellulär oder transmembranär. Die Bindungsstelle des Rezeptors für das G-Protein ist intrazellulär.

G-Proteine werden weiterhin nach ihrer intrinsischen Aktivität klassifiziert:  $G_s$ - (s: stimulierend) und  $G_{i/o}$ - (i: inhibitorisch, o: olfaktorisch) -Proteine stimulieren beziehungsweise hemmen die Adenylatcyclase und modulieren dadurch die cAMP-Signalkaskade (cAMP: zyklisches Adenosinmonophosphat);  $G_{q/11}$ -Proteine aktivieren die Phospholipase C und führen zur Bildung der *second messenger*  $IP_3$  (Inositol-1,4,5-Trisphosphat) und DAG (Diacylglycerin), die zur Calcium-Mobilisation und Aktivierung der Proteinkinase C führen. G-Proteine bestehen aus den drei Untereinheiten  $\alpha$  (als  $\alpha_s$ ,  $\alpha_{i/o}$  oder  $\alpha_q$ ),  $\beta$  und  $\gamma$ , sind also heterotrimer. In Ruhe ist an die  $\alpha$ -Untereinheit Guanosindiphosphat (GDP) gebunden. Bei Reaktion des Botenstoffs mit dem Rezeptor findet eine Konformationsänderung der Transmembrandomäne statt und der Botenstoff-Rezeptor-Komplex bindet an das G-Protein; GDP wird durch zytosolisches GTP (Guanosintriphosphat) ersetzt. Der G-Protein-Komplex dissoziiert in die  $\alpha$ - und die  $\beta\gamma$ -Untereinheit.  $\alpha$ -GTP als aktivierte Form führt zur weiteren Signaltransduktion, indem es zum Beispiel die Aktivität der Adenylatcyclase moduliert. Die Inaktivierung der Signalkette geschieht durch die intrinsische GTPase-Aktivität der  $\alpha$ -Untereinheit, die das daran gebundene GTP in GDP und  $P_i$  spaltet; die drei Untereinheiten treten dann wieder zu einem trimeren G-Protein zusammen.

### 1.3.3 Morphologie des metabotropen Glutamaterezeptors 3 (mGluR3)

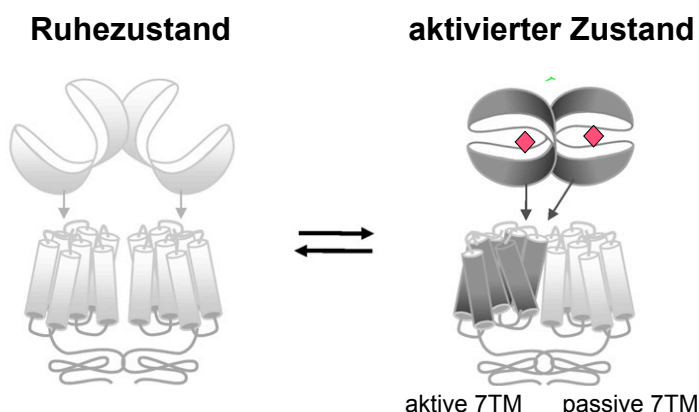
Die Struktur des metabotropen Glutamaterezeptors 3 ist seit 2007 bekannt (Muto et al. 2007; Überblick bei: Kniazeff et al. 2011; Nicoletti et al. 2011; Niswender & Conn 2010). Typisch für die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren der Familie C ist eine große extrazelluläre N-terminale Domäne. Diese besteht aus zwei Lappen, zwischen denen die Agonisten-Bindungsstelle sitzt. Diese Anordnung wird auch als Venusfliegenfalle (*Venus flytrap*, VFT) bezeichnet. Die Verbindung zur Transmembran-Domäne (7TM) wird über die *Cysteine-rich*-Domäne (CRD) hergestellt (Abbildung 1.3 links). Metabotrope Glutamaterezeptoren sind Dimere (Abbildung 1.3 rechts). Der Rezeptor kann einen aktivierten und einen Ruhezustand einnehmen. Im aktivierten Zustand wird eine Konformationsänderung auf der 7TM-Ebene herbeigeführt, die zur G-Protein-Aktivierung führt.



*Abbildung 1.3: Struktureller und schematischer Aufbau eines metabotropen Glutamaterezeptors. Links Monomer aus Venus flytrap-Domäne (VFT), Cysteine-rich-Domäne (CRD) und 7-Transmembrandomäne (7TM). Rechts: Schema und Struktur eines Dimers; die beiden VFTs sind durch eine Disulfidbrücke verbunden.*

*Quelle: modifiziert nach Kniazeff et al. 2011; Nicoletti et al. 2010.*

Die Bindung von Glutamat an die offene VFT führt zu einer Konformationsänderung der VFT zu „geschlossen“. Die VFT-Dimere können drei Zustände annehmen: offen-offen, offen-geschlossen und geschlossen-geschlossen. Die offen-offen-Konformation entspricht dem Ruhezustand des Rezeptors und wird durch Antagonisten stabilisiert. Die Konformationen offen-geschlossen und geschlossen-geschlossen entstehen durch die Bindung von ein oder zwei Liganden. Noch wird kontrovers diskutiert, ob die Bindung von Glutamat an nur ein Protomer des Dimers zur Aktivierung des Rezeptors ausreicht (Kniazeff et al. 2011, Nicoletti et al. 2011).



*Abbildung 1.4: Modell der Aktivierung eines dimeren GPCR: links Ruhezustand, beide VFTs sind offen und beide 7TMs inaktiv; rechts: Agonistenbindung führt zur Konformationsänderung der beiden VFTs zu „geschlossen“ und zur Aktivierung einer 7TM (dunkelgrau), während die zweite 7TM (hellgrau) inaktiv bleibt.*

*Quelle: modifiziert nach Kniazeff et al. 2011.*

Nach dem vorherrschenden Funktionsmodell (González-Maeso & Sealfon 2009; Kniazeff et al. 2011) befinden sich GPCRs in einem Equilibrium zwischen den beiden Konformationszuständen inaktiv und aktiv. Antagonisten haben die gleiche Affinität für beide Zustände, während Agonisten eine höhere Affinität für den aktiven Zustand zeigen und diesen stabilisieren. Theoretische Modelle postulieren eine Vielzahl von aktiven und inaktiven Konformationszuständen und komplexe Mechanismen der Aktivierung sowie verschiedene Funktionen. Abbildung 1.4 zeigt ein einfaches Modell der Rezeptoraktivierung.

Neben Homodimeren sind bei G-Protein-gekoppelten Rezeptoren der Gruppe C nach neueren Erkenntnissen auch Heterodimere möglich (Doumazane et al. 2011). Subtypen der gleichen mGluR-Gruppe können Intragruppendimere (z. B. GluR2 mit mGluR3), und – zwischen Gruppe II und Gruppe III, die beide an das gleiche G-Protein gekoppelt sind – auch Intergruppen-Heterodimere (z. B. mGluR2 mit mGluR4) bilden. Dies erweitert die Anzahl von möglichen mGluR-Typen erheblich. Weiterhin sind Heterokomplexe, zum Beispiel zwischen dem mGluR2 und dem Serotonin 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor, möglich (González-Maeso et al. 2008; Moreno et al. 2009; Albizu et al. 2010). Vor allem im Hinblick auf pharmakologische Interventionen wird zur Zeit erforscht, welches die molekularen Mechanismen der Rezeptoraktivierung sind, wie die beiden Einheiten der Dimere in Anwesenheit von einem oder zwei Agonisten und/oder Antagonisten zusammenarbeiten, welchen Einfluss allosterische Modulatoren haben und wie die Interaktion der sechs beteiligten Domänen bei der G-Protein-Aktivierung ist. Auch die Funktion der verschiedenen möglichen Heterodimere ist Gegenstand der Forschung (Überblicke bei: Kniazeff et al. 2011; Nicoletti et al. 2011).

#### 1.3.4 Verteilung des metabotropen Glutamaterezeptors 3

Glutamat als erregender Transmitter kommt im ganzen zentralen Nervensystem vor, besonders in Fasersystemen, die vom Neocortex in subcorticale Regionen projizieren, in den Basalganglien, im Thalamus und im Hippocampus. Wichtige glutamaterge Neuronen sind die Pyramidenzellen des Hippocampus, corticale Motoneuronen und in die Basalganglien projizierende Neuronen. Das Vorkommen in den corticofugalen Bahnen und im Hippocampus ist ein Hinweis darauf, dass Glutamat an der Informationsverarbeitung und dem Kurzzeitgedächtnis beteiligt ist (Birbaumer & Schmidt 2010).

Der metabotrope Glutamaterezeptor 3 wurde unter anderem im präfrontalen Cortex, in limbischen Regionen einschließlich Hippocampus, Gyrus cinguli, Gyrus dentatus, Amygdala und Thalamus und im olfaktorischen System sowie im cerebellaren Cortex nachgewiesen (Marek 2010; Harrison et al. 2008). Er kommt in verschiedenen Zelltypen, vor allem in Gliazellen und in Neuronen, vor.



Dort liegt er meist präsynaptisch außerhalb der aktiven Zone der Synapse, es kommen aber auch postsynaptische Lokalisationen vor. mGluR2/3 wurden außer an glutamatergen auch an GABA-ergen und dopaminergen Synapsen nachgewiesen (Ghose et al. 2009). Die experimentelle Unterscheidung der beiden Rezeptoren der Gruppe II (mGluR2 und mGluR3) ist schwierig, da sie einen hohen Grad an Sequenzhomologie aufweisen und die meisten in Experimenten verwendeten Agonisten daher beide Rezeptoren aktivieren. Lediglich N-Acetylaspartyl-Glutamat (NAAG), ein im Gehirn weit verbreitetes endogenes Neuropeptid, gilt als spezifischer Agonist für mGluR3 und erlaubt die Differenzierung der beiden Subtypen (Harrison et al. 2008). Die experimentelle Umsetzung scheint jedoch schwierig zu sein (Johnson 2011; Chopra et al. 2009), da NAAG physiologisch zu Glutamat und NAA hydrolysiert wird, so dass beobachtete Wirkungen auch durch „Verunreinigungen“ mit Glutamat hervorgerufen sein könnten. Ein wichtiges Thema für die Forschung ist daher die Entwicklung selektiver Liganden, um die beiden Rezeptoren unterscheiden zu können.

### 1.3.5 Funktion des metabotropen Glutamaterezeptors 3

#### 1.3.5.1 *Die glutamaterge Signaltransduktion*

An der glutamatergen Neurotransmission sind neben den prä- und postsynaptischen Neuronen und den verschiedenen Glutamaterezeptoren auch Astrogliazellen, Glutamattransporter, *second-messenger*-Systeme und Enzyme beteiligt. Im Gehirn entsteht Glutamat zum einen im Citratzyklus in den Mitochondrien der Gliazellen und zum anderen in den Terminalen der Neurone aus Glutamin. Präsynaptisch wird es in Vesikeln gespeichert. Ein ankommendes Aktionspotenzial führt dort zum Einstrom von Calcium in die Zelle, was die Freisetzung von Glutamat aus den Vesikeln in den synaptischen Spalt auslöst. Das Glutamat diffundiert durch den synaptischen Spalt und bindet an der postsynaptischen Membran an ionotrope Glutamaterezeptoren, die zu einem Einstrom von Natrium und Calcium in das postsynaptische Element und zu einer Membrandepolarisation führen. Überschreitet die Summe dieser exzitatorischen postsynaptischen Potenziale (EPSP) ein Schwellenpotenzial, entsteht ein Aktionspotenzial, das über das Axon zu weiteren Neuronen fortgeleitet wird (Überblick bei: Benninghoff & Drenckhahn 2003; Cherlyn et al. 2010; Birbaumer & Schmidt 2010).

Im synaptischen Spalt bindet Glutamat auch an präsynaptisch liegende Autorezeptoren, wodurch seine Freisetzung wieder inhibiert wird. Überschüssiges Glutamat wird durch Glutamattransporter (*excitatory amino acid transporters*, EAAT) rasch in die Astrogliazellen und, zu einem geringeren Teil, in die Präsynapsen aufgenommen. Da Glutamat in hohen Konzentrationen neurotoxisch wirkt, ist die Regulierung der extrazellulären Glutamatkonzentration von großer Wichtigkeit. Gliazellen und Neuronen und ihre Rezeptoren und Transporter arbeiten dabei zusammen und modulieren die

Konzentration in dem schmalen Spektrum zwischen Exzitotoxizität und möglicher Signalwirkung. Die mGluR3 tragen neben weiteren Mechanismen zu dieser wichtigen Feinabstimmung von Glutamat im synaptischen Spalt bei (Harrison et al. 2008; Niswender & Conn 2010).

### 1.3.5.2 Wirkungsweise der mGluR3 bei der Signaltransduktion

Die metabotropen Glutamaterezeptoren haben – im Gegensatz zur den ionotropen Rezeptoren, deren Aktivierung sehr schnell geht – langsame und differenzierte Effekte auf die Zelle und dienen der Regulation und Feinabstimmung der Glutamattransmission (Conn & Pin 1997; Niswender & Conn 2010; Überblick bei: Harrison et al. 2008; Marek 2010). Je nach neuronaler oder glialer Lokalisation kann ihre Wirkung unterschiedlich sein.

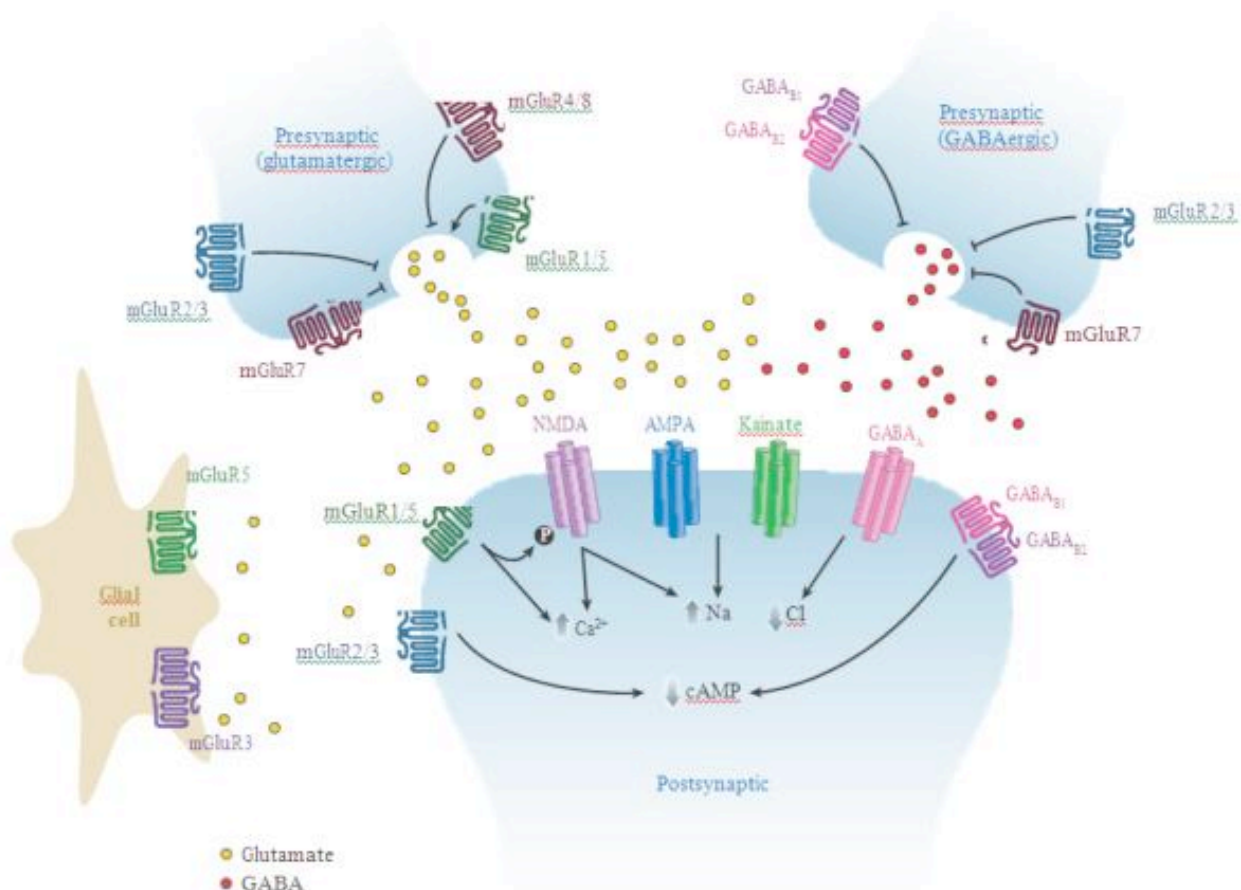


Abbildung 1.5: Schema der synaptischen Glutamaterezeptoren und ihrer Funktion.

Präsynaptisch (oben links) freigesetztes Glutamat bindet an die postsynaptisch liegenden ionotropen NMDA-, AMPA- und Kainatrezeptoren (unten) und führt dort über intrazelluläre Natrium- und Calciuserhöhung zur Erregbarkeit der Zelle und damit zur Signalwirkung.

mGluRs der Gruppe II (blau) liegen häufig prä- und teilweise postsynaptisch und hemmen die Freisetzung von Glutamat (gelb, links) und GABA (rot, rechts). Gliazellen tragen ebenfalls mGluR3.

Quelle: nach Niswender & Conn 2010.

mGluR3 liegen meist präsynaptisch außerhalb der aktiven Zone der Synapse (Abbildung 1.5) und werden durch extrasynaptisches (sogenanntes *Overspill*-) Glutamat aktiviert, das dort aus verschiedenen Zellen konfluiert. Ihre Aktivierung führt über die  $G_{i/o}$ -Proteinaktivität zu einer Hemmung der Adenylatcyclase und Reduzierung der cAMP-Konzentration, welche einhergeht mit mehr  $K^+$ - und weniger  $Ca^{++}$ -Strömen. Die Zellmembran wird dadurch hyperpolarisiert, die Aktionspotenzialfrequenz sinkt. Präsynaptisch an Neuronen liegende mGluR3 inhibieren dadurch die vesikuläre Freisetzung von Glutamat und GABA. mGluR3 regulieren so in einem negativen Feedback-Mechanismus die Konzentration von Glutamat und GABA im synaptischen Spalt und damit auch die Erregbarkeit der postsynaptischen Zelle (Cartmell & Schoepp 2000; Niswender & Conn 2010). Postsynaptisch liegende mGluR3 modulieren NMDA- und GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren.

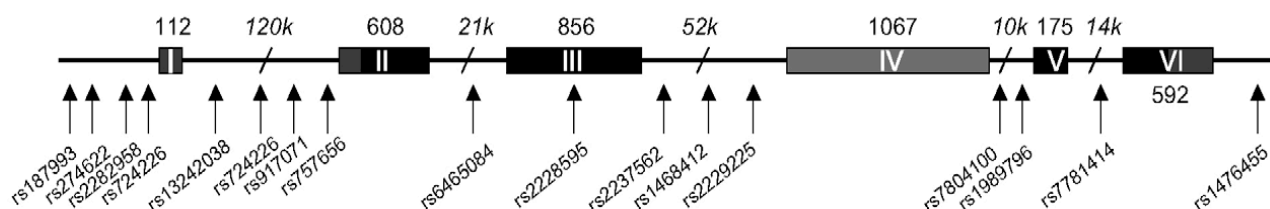
### 1.3.5.3 **Weitere Wirkungen der mGluR3**

Glutamat beeinflusst auch die Erregungsschwelle für die meisten anderen Transmitter. Die metabotropen Glutamatrezeptoren 3 sind daher in weitere komplexe Regelungsmechanismen eingebunden (Überblick bei: Harrison et al. 2008; Gaspar et al. 2009; Ghose et al. 2009). Als Heterozep-toren regulieren sie die Freisetzung von verschiedenen anderen Neurotransmittern, vor allem von GABA, Dopamin, Noradrenalin und Neuropeptiden; sie antagonisieren die 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptorfunktion und haben modulierende Wirkung auf die Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse (Scaccianoce et al. 2003). Durch die bei der Rezeptoraktivierung abgespaltete  $\beta\gamma$ -Untereinheit des G-Proteins werden Ionenkanäle reguliert und weitere Signalwege aktiviert, unter anderem der MAP-Kinase-Weg (MAP: *mitogen-activated protein*), der für die synaptische Langzeitplastizität wichtig ist, und der PI-3-Kinase-Weg (PI-3: Phosphoinositid-3). Außerdem interagieren viele Proteine mit dem intrazellulären C-Terminus (Niswender & Conn 2010).

Die Expression von mGluR3 auf Gliazellen spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung der synaptischen Aktivität (Niswender & Conn 2010). Sie beeinflussen die Expression von Glutamattransportern in Gliazellen, die extrazelluläres Glutamat aufnehmen (Aronica et al. 2003), scheinen die Freisetzung von nicht-vesikulärem Glutamat aus Gliazellen zu regulieren (Cartmell & Schoepp 2000) und Einfluss auf Metabolismus, Gentranskription und weitere Aspekte der Gliafunktion und der Glia-Neuronen-Kommunikation zu haben. Im Tierversuch erwiesen sich mGluR3-selektive Agonisten als neuroprotektiv; diese Wirkung scheint an den Astrozyten stattzufinden (Corti et al. 2007a) und könnte über hypoxieinduzierte Genexpression (Schmidt-Kastner et al. 2006) und neuroprotektiv wirkende Wachstumsfaktoren (Ghose et al. 2009) vermittelt werden. Nach neuesten Berichten (Matrisciano et al. 2011) hat die pharmakologische Aktivierung von mGluR2/3 im Tierversuch auch Einfluss auf die epigenetische Regulation von Genen, die als Risikogene der Schizophrenie gelten.

### 1.4 GRM3: Das Gen des metabotropen Glutamaterezeptors 3

Das Gen GRM3, das für den metabotropen Glutamaterezeptor 3 kodiert, ist auf Chromosom 7q21.1 – q21.2 lokalisiert und umfasst 220 Kilobasen (Scherer et al. 1996; Corti et al. 2000). Es hat sechs Exons (Abbildung 1.6, Exon I bis VI), die durch fünf Introns unterbrochen werden.



*Abbildung 1.6: Struktur des menschlichen GRM3-Gens mit den Exons I bis VI; oben Anzahl der Basenpaare der Exons und Introns; unten Position ausgewählter bisher untersuchter SNPs.*

*Quelle: Harrison 2008.*

Es sind vier Splice-Varianten des GRM3 bekannt (Sartorius et al. 2006; Sartorius et al. 2008): GRM3 (alle Exons), GRM3 $\Delta$ 2 (ohne Exon 2), GRM3 $\Delta$ 4 (ohne Exon 4) und GRM3 $\Delta$ 2 $\Delta$ 4 (ohne Exons 2 und 4). GRM3 $\Delta$ 4 scheint neben dem kompletten Gen die häufigste Splice-Variante zu sein. Sie kodiert für eine um die Transmembran-Domäne verkürzte Isoform des Rezeptors, die vermutlich löslich ist und mit dem kompletten Rezeptor interagiert.

Die Expression von GRM3 in kognitionsrelevanten Regionen des menschlichen Gehirns wie dem präfrontalen Cortex, dem Hippocampus und Teilen des Frontallappens korreliert negativ mit dem Lebensalter (Colantuoni et al. 2008; Sartorius et al. 2008). Das Absinken von GRM3 mit zunehmendem Alter spiegelt wahrscheinlich das normale molekulare Altern des Gehirns wider.

Es gibt einige wenige Studien, die GRM3 direkt im Hinblick auf die Kognition untersuchen (siehe Punkt 1.4.3). Zahlreiche Studien untersuchen dagegen die glutamaterge Neurotransmission bei psychiatrischen Krankheiten, vor allem im Hinblick auf mögliche pharmakologische Interventionen, da die Glutamatsignalwege neue therapeutische Ansatzpunkte versprechen. Daher kommen die bisherigen Erkenntnisse über eine Assoziation zwischen GRM3 und Kognition vor allem aus der Psychiatrie (aus Untersuchungen an psychiatrischen Patienten und ihren Verwandten sowie an gesunden Kontrollpersonen) und über die pharmakologische Brücke (aus der pharmakologischen Forschung und aus Tierversuchen). Vor allem Schizophrenie, die bipolare affektive Störung, Depression und Autismus sind in diesem Zusammenhang von Interesse, da diese Krankheiten bei den Betroffenen zu schweren kognitiven und affektiven Störungen führen können. Ein dysregulier-

tes Glutamatsystem scheint mit an der Pathogenese dieser Störungen beteiligt zu sein. Gene, die das Glutamatsystem beeinflussen, sind daher gute, wenn auch bei weitem nicht die einzigen Kandidatengene für diese Krankheiten und auch für die Kognition.

GRM3 wurde in mehreren Kopplungsstudien mit Suszeptibilitäts-Loci für Schizophrenie (Moises et al. 1995; Blouin et al. 1998; Faraone et al. 1998; Ekelund et al. 2000; Wedenoja et al. 2007) und die bipolare Störung (Bennett et al. 2002) in Verbindung gebracht und gilt als ein mögliches Risikogen für diese Störungen (Harrison & Weinberger 2005; Rujescu 2010). Die klinische Präsentation der beiden Krankheiten ist sehr variabel und überschneidet sich zum Teil. Beide gehen mit kognitiven Defiziten einher, so dass unter anderem Aufmerksamkeit, Verarbeitungsgeschwindigkeit, Arbeitsgedächtnis, verbales und visuelles Lernen, Problemlösen und soziale Intelligenz eingeschränkt sein können (Gravius et al. 2010; Conn et al. 2009). Familienbasierte und genomweite Kopplungsstudien zeigen gemeinsame Risikogene für beide Krankheiten (Cherlyn et al. 2010; Craddock & Sklar 2009; Doherty et al. 2012; Ivleva et al. 2010; Maier & Rujescu 2010; Williams et al. 2011).

#### 1.4.1 GRM3 und Schizophrenie

GRM3 wurde zunächst als Suszeptibilitäts-gen für Schizophrenie untersucht. Die Schizophrenie ist eine komplexe psychische Krankheit mit einer Lebenszeitprävalenz von etwa einem Prozent. Das klinische Erscheinungsbild kann sehr heterogen sein; große Symptomenkomplexe sind die sogenannten Positivsymptome, zu denen unter anderem Halluzinationen, Wahnvorstellungen und Affektstörungen zählen, die Negativsymptome (wie zum Beispiel Anhedonie, soziale Dysfunktion und Rückzug) und als drittes die kognitiven Defizite. Die pharmakologische Therapie spricht nicht bei allen Patienten gleich gut an und ist oft mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden, so dass diese Krankheit eine große Last für die Betroffenen wie für ihr Umfeld darstellt. Für die Entstehung der Schizophrenie wird eine genetische Komponente mit einer Erbllichkeit bis zu 80% angenommen (Cardno & Gottesman 2000; Sullivan et al. 2003). Das genetische Risiko scheint von vielen häufigen Vulnerabilitätsallelen mit jeweils geringem Einfluss (Harrison & Weinberger 2005), aber auch von seltenen Polymorphismen und CNVs (*copy number variations*) auszugehen (Überblick z. B. bei: Doherty et al. 2012; Kim et al. 2011; Collins et al. 2011).

##### 1.4.1.1 Die Rolle von Glutamat in der Pathophysiologie der Schizophrenie

Als wesentliche ätiologische Faktoren werden heute Störungen der Synapsenfunktionen und der Synchronisation von neuronalen Zellensembles und Schaltkreisen (*neural circuits*) diskutiert (Überblick z. B. bei: Eisenberg & Berman 2010; Schmitt et al. 2011; Swerdlow 2010). Eine gestörte frühe Entwicklung des Nervensystems (Weinberger 1986; Murray & Lewis 1987; Owen et al. 2011)

sowie Umwelteinflüsse (Nicodemus et al. 2008) scheinen zum Krankheitsrisiko beizutragen. Pathophysiologisch gut untersucht sind die Systeme der Neurotransmitter. Die Funktionshypothesen stützen sich dabei vor allem auf die Pharmakologie von antipsychotischen Medikamenten (Überblicke bei: González-Maeso & Sealfon 2009; Rujescu 2010). Dopamin stand lange Zeit im Mittelpunkt des Interesses, da ältere Neuroleptika wie Chlorpromazin und Haloperidol über eine Blockierung des D2-Dopaminrezeptors eine Inhibierung des dopaminergen Systems bewirken. Antipsychotika der zweiten Generation wie Clozapin und Olanzapin zeigen zusätzlich eine Affinität für den Serotonin-5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor, so dass auch Veränderungen des Serotoninhaushalts bei der Schizophrenie postuliert werden. Durch die Interaktionen der verschiedenen Neurotransmitter hat die Störung eines Transmitters auch Auswirkungen auf andere Transmittersysteme.

Die neuere Glutamathypothese der Schizophrenie beruht auf der Erkenntnis, dass Antagonisten des NMDA-Rezeptors, wie Phencyclidin (PCP) und Ketamin, bei gesunden Personen kognitive Defizite und psychotische Zustände hervorrufen können, die denen der Schizophrenie ähneln. Bei Schizophreniepatienten können sie die Symptome verstärken. Ein Erklärungsmodell dafür ist, dass der Schizophrenie eine Hypofunktion des NMDA-Rezeptors zugrunde liegt, die vermutlich über Veränderungen der corticalen und subcorticalen Signalwege zu vermehrter Glutamat-Aktivität im präfrontalen Cortex führt. Inzwischen gibt es viele Studien, die den Einfluss einer dysfunktionalen Glutamattransmission auf die Pathophysiologie der Schizophrenie belegen (Überblick z. B. bei: Chaki 2010; Chaki & Hikichi 2011; Cherlyn et al. 2010; Conn et al. 2009; Fell et al. 2012; Gaspar et al. 2009; Harrison et al. 2008; Moreno et al. 2009; Sodhi et al. 2008; Harrison et al. 2008). Für viele Gene, die direkt oder indirekt mit Glutamatsignalwegen zu tun haben, wurde in jüngster Zeit eine Assoziation zur Schizophrenie nachgewiesen .

Tiermodelle untermauern die Glutamathypothese der Schizophrenie und belegen zugleich den Einfluss der metabotropen Glutamatrezeptoren. mGluR2/3-Agonisten konnten im Tierversuch durch PCP ausgelöste Beeinträchtigungen abmildern (Moghaddam & Adams 1998) und die halluzinogenen Effekte des 5-HT<sub>2A</sub>-Agonisten DOI verringern (Gewirtz & Marek 2000). Bei gesunden Probanden konnten Ketamin-induzierte Defizite des Arbeitsgedächtnisses durch mGluR2/3-Aktivierung verbessert werden (Krystal et al. 2005). In einer ersten klinischen Studie an schizophrenen Patienten führte die Behandlung mit einem mGluR2/3-Agonisten zu einer Verbesserung sowohl der Positiv- als auch der Negativsymptomatik (Patil et al. 2007). Die pharmakologische Wirkung könnte auf molekularer Ebene über eine Wiederherstellung der NMDA-Rezeptorfunktion oder über eine Reduzierung der Glutamattransmission im präfrontalen Cortex vermittelt werden (Gaspar et al. 2009). Die metabotropen Glutamatrezeptoren als regulierende Elemente sind daher vielversprechende Zielstrukturen für neue Klassen von Pharmaka, die vor allem die bisher schlecht beein-

flussbaren kognitiven Defizite dieser Krankheit verbessern könnten (Chaki 2010; Fell et al. 2012; Gravius et al. 2010; Marek 2010; Harrison et al. 2008).

Die Datenlage zur Expression von GRM3 bei Schizophrenie ist uneinheitlich, liefert aber doch einige Hinweise, dass dieser Rezeptor an der veränderten Glutamatneurotransmission bei der Schizophrenie beteiligt sein könnte. Die meisten Studien fanden in den Gehirnen verstorbener Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen unveränderte Konzentrationen von GRM3-mRNA (Überblick bei: Chaki 2010; Gaspar et al. 2009; Moreno et al. 2009). In einer Studie war – bei unveränderter Gesamtkonzentration von mGluR3 – der Anteil der dimeren Form des Rezeptors verringert (Corti et al. 2007b), während in einer anderen Studie im dorsolateralen präfrontalen Cortex (nicht aber in anderen Gehirnregionen) auch erhöhte Expressionslevel von mGluR3 nachgewiesen wurden (Ghose et al. 2009).

#### 1.4.1.2 **Studien zur Assoziation von GRM3 und rs6465084 mit der Schizophrenie**

Es gibt eine ganze Reihe von genetischen Assoziationsstudien zu GRM3 und Schizophrenie. Die Hinweise auf einen Einfluss von GRM3 sind jedoch widersprüchlich.

Eine umfassende Studie zu GRM3 wurde 2004 in den USA im Rahmen der National Institute of Mental Health Sibling Study (NIMH Sib Study) durchgeführt (Egan et al. 2004). Ziel war es, den Einfluss des Gens auf das Schizophrenierisiko und auf damit verbundene kognitive, physiologische und molekulare Phänotypen darzulegen. Diese Studie brachte zum ersten Mal den SNP rs6465084 (bei Egan mit der Celera-ID hcV11245618 bezeichnet) mit der Schizophrenie und auch mit der Kognition bei gesunden Personen in Zusammenhang. Es zeigte sich eine leichte Überexpression des A-Allels von rs6465084 bei Schizophrenie; dies galt auch für einen Haplotyp, der diesen SNP enthielt. Für zwei weitere SNPs wurden, allerdings nur in Teilen des Studienkollektivs, ebenfalls Assoziationen zur Diagnose Schizophrenie nachgewiesen. rs6465084 zeigte signifikante Assoziationen zu intermediären kognitiven Phänotypen der hippocampalen und präfrontalen Cortex-Funktion, die bei der Schizophrenie häufig beeinträchtigt sind (siehe auch 1.4.3.2). Auch die synaptische Neurotransmission und Glutamatkonzentration im präfrontalen Cortex und Hippocampus waren mit dem Genotyp von rs6465084 assoziiert. In postmortalem Gehirngewebe zeigte sich ein Zusammenhang mit präfrontal reduzierter mRNA des Glutamattransporters EAAT2, der von GRM3 reguliert wird.

Die neurophysiologisch gut untermauerte Bedeutung des SNPs rs6465084 aus dieser Arbeit und weitere positive Assoziationen von GRM3 zur Schizophrenie (Martí et al. 2002; Fujii et al. 2003; Chen et al. 2005) führten zu zahlreichen Replikationsversuchen. Die Zusammenhänge konnten aber mehrheitlich nicht bestätigt werden (Norton et al. 2005; Fallin et al. 2005; Tochigi et al. 2006;

Bishop et al. 2007; Schwab et al. 2008; Albalushi et al. 2008; Nunokawa et al. 2008; Betcheva et al. 2009; Jönsson et al. 2009). Die einzige Replikation der von Egan et al. (2004) gezeigten Assoziation des A-Allels von rs6465084 zur Schizophrenie stammt aus einer deutschen Studie (Mössner et al. 2008). Positive Resultate ergaben auch einige Studien zu einzelnen Aspekten der Schizophrenie: Die Arbeit von Sartorius et al. (Sartorius et al. 2008) liefert Hinweise, dass GRM3 über alternative Spleißvarianten die Expression von Isoformen des Rezeptors beeinflusst und vielleicht auf diese Weise das Krankheitsrisiko vermittelt. Die Glutamathypothese wird in einer aktuellen amerikanischen Studie durch die Assoziation verschiedener glutamaterger Gene und auch eines SNPs aus GRM3 mit neurophysiologischen intermediären Phänotypen gestärkt (Greenwood et al. 2011).

Einen Überblick über die Studien zur Assoziation von GRM3 zur Schizophrenie zeigt Tabelle 1.2 (Seite 41). Der Überblick macht deutlich, dass die Belege für eine Assoziation nur sehr schwach und zum Teil auch widersprüchlich sind.

#### 1.4.2 GRM3 und affektive Störungen

##### 1.4.2.1 *Die Rolle von Glutamat bei Genese und Therapie von affektiven Störungen*

Affektive Störungen wie die Depression und die bipolare affektive Störung sind komplexe Krankheitsbilder, bei denen neben Umweltfaktoren zahlreiche Gene und genetische Mechanismen zur Wahrscheinlichkeit eines Krankheitsausbruchs beitragen. Die neuere Forschung hat zunehmend Hinweise, dass auch bei diesen Erkrankungen vielfältige Veränderungen des Glutamatsystems auftreten und eine wichtige Rolle bei der Genese dieser Störungen spielen.

Zu den pathologischen Prozessen, die mit an der Entstehung affektiver Störungen beteiligt sind, gehören Veränderungen der synaptischen und neuronalen Plastizität, an denen das glutamaterge Neurotransmittersystem beteiligt ist. Es wird daher auch von einer Glutamathypothese der affektiven Störungen gesprochen (Hashimoto 2011; Nanavati et al. 2011; Sanacora et al. 2008). Die Gehirnregionen, in denen mGluR2/3 vornehmlich exprimiert werden (präfrontaler Cortex, limbisches System, Basalganglien) sind außer mit Denken und Lernen auch mit Emotionsverarbeitung, Emotionskontrolle und Affektregulierung verbunden. Etliche Studien konnten inzwischen nachweisen, dass bei den affektiven Störungen pathologische Veränderungen des Glutamatsystems in diesen Gehirnregionen auftreten und dass Medikamente auch über die Glutamatwege angreifen (Hashimoto 2011; Porcelli et al. 2011).



**Tabelle 1.2: Überblick über Studien zur Assoziation von GRM3 mit Schizophrenie**

Studie	Art	Teilnehmer	ethnische Zugehörigkeit	untersuchte SNPs																Fragestellung und Ergebnisse					
				187993	274622	2282958	2189814	13242038	724226	917071	757656	6465084	2228595	2237554	2237562	1468412	17676277	2299225	7804100		7808623	1989796	1476455	10487055	weitere
Martí et al. 2002	FK	265 S, 238 B, 227 K	deutsch																						+ S
	FK	288 S, 162 K	deutsch																						- S
	Fam	128 Familien mit S	deutsch																						- S
Fuji et al. 2003	FK	100 S, 100 K	japanisch																						+/- S
Chen et al. 2005	FK	752 S, 752 K	han-chinesisch																						+/- S
Egan et al. 2004	Fam	217 S, 311 Geschw., 362 Eltern, 136 K	euro-amerikanisch	(+)																					+/- S
	Fam	67 Familien mit S	euro-amerikanisch	-																					- S
	Fam	51 Familien mit S	afro-amerikanisch	-																					+/- S
Norton et al. 2005	FK	674 S, 716 K	britisch, irisch	(+)																					- S
Fallin et al. 2005	Fam	274 Familien mit S	aschkenasisch- jüdisch																						- S
Tochigi et al. 2006	FK	402 S, 468 K	japanisch																						- S
Bishop et al. 2007	FK	207 S, 147 K	amerikanisch																						- S
Schwab et al. 2006	Fam	nicht angegeben	nicht angegeben																						+ S
Schwab et al. 2008	Fam	242 Familien mit S	deutsch, israel., ungar.																						- S
Mössner et al. 2008	FK	631 S, 519 K	deutsch																						+ S
Albalushi et al. 2008	FK	1916 S, 1915 K	japanisch																						- S
Nunokawa et al. 2008	FK	2358 S, 2433 K	japanisch																						- S
Belcheva et al. 2009	FK	255 S, 556 K	bulgarisch																						- S
Jönsson et al. 2009	FK	837 S, 1473 K	skandinavisch	-																					- S
Sartorius et al. 2008	FK	34 S, 70 K (DLPFC)	gemischt-amerikanisch																						+/- Expression/Splicing
	FK	30 S, 71 K (HC)	gemischt-amerikanisch																						+/- Expression/Splicing
	FK	33 S, 33 B, 35 K	gemischt-amerikanisch																						- Expression/Splicing
Greenwood et al 2011	Fam	130 Familien mit S	gemischt-amerikanisch																						+/- S-Endophänotypen

FK: Fall-Kontroll-Studie; Fam: familienbasierte Studie; S: Schizophrenie; B: bipolare Störung; K: Kontrollperson; DLPFC: Post-mortem-Gewebe des dorsolateraler präfrontaler Cortex; HC: Post-mortem-Gewebe des Hippocampus; + : signifikante Assoziation; (+) : tendenziell signifikante Assoziation; - : keine Assoziation.

Die bipolare affektive Störung manifestiert sich durch abwechselnde Phasen von Manie und Depression und wird häufig von Denkstörungen und psychotischen Symptomen, vor allem Halluzinationen und Wahnvorstellungen, begleitet. Sie wird in zwei Typen (bipolar I mit depressiven und manischen Phasen sowie bipolar II mit depressiven und hypomanen Phasen) und weitere Untertypen unterteilt. Die Heritabilität liegt bei etwa 85% (McGuffin et al. 2003; Überblick z. B. bei: Schulze 2010).

Die Konzentration von Glutamat im Gehirn bipolarer Patienten war in mehreren Studien erhöht (Überblick bei: Newberg et al. 2008; Hashimoto 2011) und könnte potenziell neurotoxisch sein. Diskutiert wird auch ein gestörter Glutamat-Glutamin-Zyklus und dadurch eine dysfunktionale Neuron-Glia-Kommunikation (Hashimoto 2011). In Gehirnproben verstorbener bipolarer Patienten war die Menge von mGluR3-mRNA im entorhinalen und perirhinalen Cortex vermindert (Beneyto et al. 2007). Der Hippocampus ist bei bipolaren Patienten in der Bildgebung häufig verändert (Erk et al. 2010). Diese Gehirnstrukturen sind mit Lernen und Gedächtnis verbunden. Beeinträchtigungen des deklarativen Gedächtnisses sind häufige kognitive Dysfunktionen bei der bipolaren Störung.

Die Depression ist eine Krankheit mit einer Lebenszeitprävalenz von zehn bis zwanzig Prozent und präsentiert sich klinisch ebenfalls sehr heterogen. Auch hier wird von einer genetischen Suszeptibilität ausgegangen (Shyn & Hamilton 2010; Hashimoto 2011). Die glutamaterge Dysfunktion, die bei der Ätiologie der bipolaren affektiven Störung vermutet wird, könnte auch einen Einfluss auf die unipolare Depression haben. Die Glutamatkonzentration ist in Blut und Liquor von depressiven Patienten erhöht und sinkt unter antidepressiver Therapie. In der funktionellen In-vivo-Bildgebung und in Post-mortem-Material zeigt sich, dass die Glutamat-Glutaminkonzentration und die Expression mehrerer Typen von Glutamatrezeptoren im Vergleich zu gesunden Gehirnen verändert ist. Besonders die Glutamattransmission im medialen Temporallappen scheint betroffen zu sein (Hashimoto 2011; Newberg et al. 2008; Porcelli et al. 2011; Sanacora et al. 2008). So waren in den Gehirnen depressiver Patienten post mortem die mGluR3 im perirhinalen Cortex verringert (Beneyto et al. 2007). Im präfrontalen Cortex dagegen war die Konzentration von mGluR2/3-Protein erhöht (Feyissa et al. 2010).

Die bisherigen Therapien der Depression zielen auf die Erhöhung verschiedener Monoamine (Serotonin, Noradrenalin, Dopamin) im synaptischen Spalt. Da die Wirkung der Antidepressiva typischerweise erst nach etwa zwei bis drei Wochen einsetzt, geht man davon aus, dass für die antidepressive Wirkung nicht die Erhöhung der Monoamine selbst, sondern nachfolgende strukturelle und molekulare Adaptationen, die auch glutamaterge Synapsen betreffen, verantwortlich sind (Ampuero et al. 2010). Diskutiert wird unter anderem eine Erhöhung der AMPA- und NMDA-Re-

zeptorfunktion (Überblick bei: Hashimoto 2011; Newberg et al. 2008). Tiermodelle stützen die Hypothese, dass das Glutamatsystem an der pharmakologischen Wirkung von Antidepressiva beteiligt ist. Zahlreiche Substanzen, die die glutamaterge Neurotransmission beeinflussen, haben im Tierversuch antidepressiv-artige und anxiolytische Wirkungen (Bespalov u. a. 2008; Pilc u. a. 2008; Witkin 2010) so dass ein Einfluss der Gruppe II-mGluRs auf Pathophysiologie und Therapieerfolg bei der Depression vermutet wird. mGluR2/3-Antagonisten könnten potenzielle antidepressive Therapeutika sein; allerdings gibt es dazu bisher noch keine klinischen Studien (Hashimoto 2011). Auch Phasenprophylaktika wie Lithium und Valproat greifen, wie aus präklinischen Studien bekannt ist, in die Glutamatsignalwege ein und senken durch verschiedene Mechanismen die Glutamatkonzentration im synaptischen Spalt (Newberg et al. 2008). Nach der Behandlung mit Lithium wie auch mit Valproat konnten im Tierversuch erhöhte Expressionslevel von mGluR3 im postsynaptischen Proteom nachgewiesen werden (Nanavati et al. 2011).

#### 1.4.2.2 **Studien zur Assoziation von GRM3 und rs6465084 mit affektiven Störungen**

In genetischen Studien wurden neben zahlreichen anderen Genen auch GRM3-Polymorphismen mit affektiven Störungen in Zusammenhang gebracht (Überblick bei: Barnett & Smoller 2009; Craddock & Sklar 2009; Kato 2007; Newberg et al. 2008; Schulze 2010). In einigen Studien konnten Assoziationen von GRM3 mit der Diagnose bipolare affektive Störung nachgewiesen werden (Fallin et al. 2005; Sklar et al. 2008) insbesondere war rs6465084 mit psychotischen Formen der Krankheit assoziiert (Green et al. 2006; Dalvie et al. 2010). Andere Arbeiten hingegen konnten keinen Zusammenhang finden (Martí et al. 2002; Tsunoka et al. 2009; Yosifova et al. 2009), so dass die Datenlage zur bipolaren Störung uneinheitlich bleibt. Eine Studie zeigt einen Einfluss von rs6465084 auf die unipolare Depression (Tsunoka et al. 2009), allerdings gibt es bisher keine Replikationsstudien.

Da Varianten von GRM3 in einigen Studien mit einem erhöhten Risiko für Psychosen verbunden waren, sei es im Rahmen der klinischen Diagnose Schizophrenie oder der Diagnose bipolare Störung, könnte GRM3 ein Suszeptibilitätsgen für Psychosen sein (Harrison et al. 2008). Einige neuere Studien untersuchten daher GRM3 im Zusammenhang mit drogeninduzierten Psychosen. Es ergaben sich keine Assoziationen zu Psychosen, die durch den indirekten Dopamin-Agonisten Methamphetamin ausgelöst wurden (Tsunoka et al. 2011). Auch Cannabis-induzierten Psychosen waren nicht mit GRM3-Polymorphismen assoziiert (van Winkel 2011). Eine Übersicht über die Studien zu affektiven Störungen und zu drogeninduzierten Psychosen bietet die Tabelle 1.3.

**Tabelle 1.3: Überblick über Studien zur Assoziation von GRM3 mit der bipolaren affektiven Störung, der Depression und mit drogeninduzierten Psychosen.**

Studie	Art	Teilnehmer	ethnische Zugehörigkeit	untersuchte SNPs																Fragestellung und Ergebnisse					
				187993	274622	2282958	2189814	13242038	724226	917071	757656	6465084	2228595	2237554	2237562	1468412	17676277	2299225	7804100		7808623	1989796	1476455	10487055	weitere
Martí et al. 2002	FK	265 S, 238 B, 227 K	deutsch																					-	- B
Fallin et al. 2005	Fam	337 Familientrios mit B	aschkenasisch-jüdisch																					+	+ B
Green et al. 2006	FK	661 B, davon 417 mit Psychose und 166 mit häufiger Psychose, 1377 K	britisch, irisch										+												+ B + B mit Psychose
Sklar et al 2008	Fam	406 Familientrios mit B, 365 B, 351 K	gemischt-amerikanisch, schottisch											+											+ B
Yosifova et al. 2009	FK	94 B, 184 K	bulgarisch											-											- B
Dalvie et al. 2010	FK	132 B, 188 K	euro-südafrikanisch, gemischt-südafrikanisch										-												- B
	F	191 B											+												+ B mit Psychose
Tsunoka et al. 2009	FK	325 D, 155 B, 802 K	japanisch										-												- B
													+												+ D
	F	117 D	japanisch										-												- Therapie mit Fluvoxamin
Tsunoka et al. 2011	FK	181 M-Abhängige, 232 K	japanisch										-												- M-Abhängigkeit
Kerdsan et al. 2011	FK	100 M-Abhängige, 103 K	thai										-												- M-induzierte Psychose
Van Winkel 2011	Fam	740 Geschwister von Patienten mit Psychose	niederländisch, flandrisch	-	-							-	-	-											- Cannabis-induzierte Psychose

FK: Fall-Kontroll-Studie; Fam: familienbasierte Studie; F: Fallstudie; S: Schizophrenie; B: bipolare affektive Störung; K: Kontrollperson; D: Depression; M: Methamphetamin.  
+ : signifikante Assoziation; - : keine Assoziation.

### 1.4.3 GRM3 und Kognition

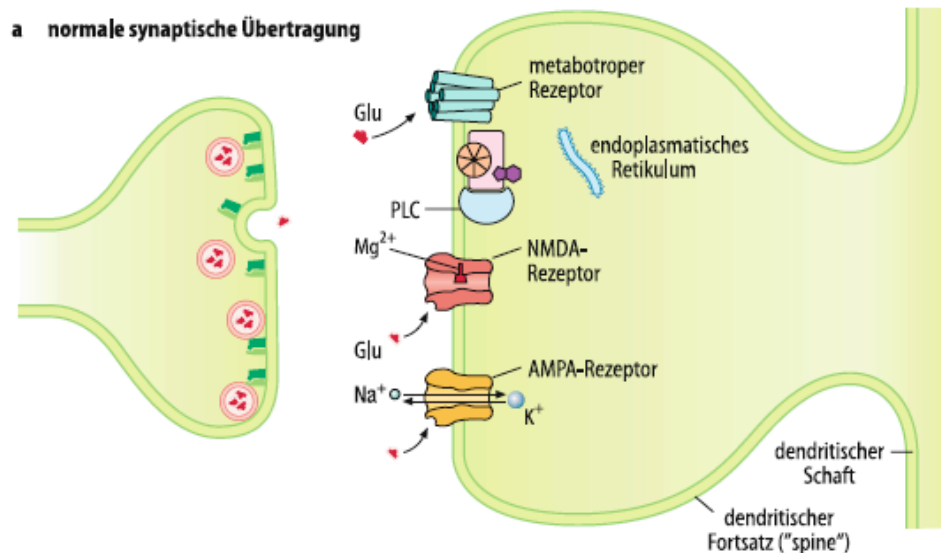
#### 1.4.3.1 Aufgabe der mGluR3 bei den kognitiven Funktionen

Um die genetischen Einflüsse auf die Kognition zu untersuchen, ist das Verständnis der zugrundeliegenden funktionellen Neuroanatomie, der neuronalen Netzwerke und der zellulären und molekularen Vorgänge wichtig. Ein neueres Modell dazu, welche Gehirnregionen beteiligt sind, ist die parieto-frontale Integrationstheorie der Intelligenz (P-FIT) von Jung und Haier (2007; Überblick bei: Deary et al. 2010), die ein Netzwerk kognitiver Funktionen mit Lokalisation in frontalen und posterioren Gehirnregionen postuliert. Für das deklarative Gedächtnis sind vor allem Hippocampus und präfrontaler Cortex wichtig. Auch die Integrität der weißen Substanz des Gehirns hat wohl einen Einfluss auf die kognitiven Fähigkeiten. Das Glutamatsystem nimmt eine wichtige Rolle in den Gehirnregionen und bei den neuronalen Schaltkreisen (*neural circuits*) ein, die an der Kognition beteiligt sind (Gaspar et al. 2009). Dieser Zusammenhang wurde im Tierversuch vielfach nachgewiesen. Forschungen an Nagetieren haben, auch wenn es Unterschiede zwischen menschlichem und Mäusegehirn gibt, entscheidende Erkenntnisse über die physiologischen Abläufe bei kognitiven Prozessen beige-steuert (Überblick bei: Papaleo et al. 2012; Gravius et al. 2010). Experimentell wurde eine verminderte Glutamatfreisetzung durch Aktivierung von mGluRs der Gruppe II (mGluR2 und mGluR3) unter anderem im Hippocampus, im präfrontalen Cortex, Gyrus dentatus und Striatum nachgewiesen (Cartmell & Schoepp 2000).

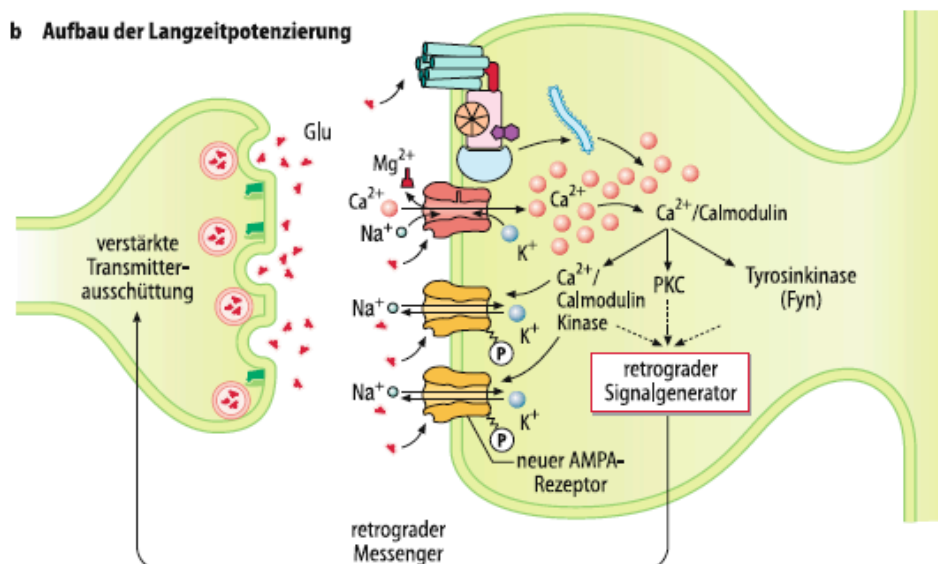
Das Glutamatsystem hat eine wichtige Rolle bei Gedächtnis und Lernen. Zellulärer „Ort des Denkens und Lernens“ (Birbaumer & Schmidt 2010) sind die *spines* der apikalen Dendriten von Pyramidenzellen. Veränderungen der dort liegenden Synapsen und weitere Mechanismen in größeren Zellensembles der beteiligten Hirnregionen führen zu veränderten Entladungsmustern von Zellensembles und gelten als eine physiologische Grundlage des Lernens. Voraussetzung dafür ist die sogenannte synaptische Plastizität, die entscheidend durch Glutamat vermittelt wird. Synapsen sind modifizierbar: Sie reagieren auf wiederholte Aktivitätsmuster, die während des Lernens auftreten, mit strukturellen und funktionellen Anpassungen, welche die Effizienz der Synapse verändern. Diese Veränderungsfähigkeit wird unter dem Oberbegriff der synaptischen Plastizität zusammengefasst. Langzeitpotenzierung (*long term potentiation*, LTP) und Langzeitdepression (*long term depression*, LTD) sind zwei der Mechanismen, die Lernen und Gedächtnis auf zellulärer Ebene erklären.

Die Langzeitpotenzierung wird besonders im Hippocampus beobachtet (Squire 1992; Bliss & Collingridge 1993; Tulving & Markowitsch 1998). Sie wird durch Glutamat an NMDA-Rezeptoren übertragen und hält für Stunden bis Tage an. Bei der normalen Aktivierung glutamaterger Synap-

sen werden nur die Non-NMDA-Kanäle geöffnet, während die NMDA-Rezeptoren durch ein Magnesiumion verschlossen bleiben. Erst wenn durch hochfrequente exzitatorische postsynaptische Potenziale (EPSP) und wiederholte simultane Aktivierung durch mehrere Axone eine stärkere



a) Bei der normalen Signalübertragung bleiben die NMDA-Rezeptoren durch  $Mg^{++}$ -Ionen verschlossen.



b) Durch Aktivierung der Non-NMDA-Kanäle und Hochfrequenzimpulse wird der Magnesiumblock des NMDA-Rezeptors gelöst und eine intrazelluläre Kaskade in Gang gesetzt, die die Synthese und Einbau weiterer Rezeptoren auslöst und durch Phosphorylierung die Sensibilität der AMPA-Rezeptoren erhöht. Dadurch wird die LTP postsynaptisch aufrechterhalten. Durch retrograde Botenstoffe wird präsynaptisch die Glutamatausschüttung hochgehalten.

Abbildung 1.7: Molekulare Mechanismen der Langzeitpotenzierung.

Quelle: nach Birbaumer & Schmidt 2010.

postsynaptische Depolarisierung stattfindet und gleichzeitig Glutamat ausgeschüttet wird, kommt es zu einer Entfernung des Magnesiumblocks und zur Aktivierung des NMDA-Rezeptors. Die so ausgelöste intrazelluläre Signalkaskade führt über Botenstoffe zu erhöhter Glutamatausschüttung und postsynaptisch im weiteren Verlauf zu einer Verdichtung und Vergrößerung der aktiven dendritischen Zone. So wird der Wirkungsgrad der Synapse erhöht (Abbildung 1.7). Die LTP kann strukturell fixiert werden durch zusätzliche Schritte, die unter anderem Gentranskription und Proteinsynthese beinhalten. Auch langsame EPSP sind an Lernprozessen beteiligt. Die Langzeitdepression ist eine Reaktion auf niederfrequente Reizung: Die postsynaptische Membran wird hyperpolarisiert, der Wirkungsgrad dieser Synapse sinkt.

Die Bedeutung der mGluR3 bei der synaptischen Plastizität liegt darin, dass sie die Glutamatkonzentration im synaptischen Spalt reduzieren und damit die Erregbarkeit des NMDA-Rezeptors senken. Dadurch nehmen sie eine essenzielle Rolle bei der Modulierung der Langzeitpotenzierung und bei der Induzierung der Langzeitdepression ein (Pöschel et al. 2005). Genetische Varianten von GRM3, die auf die Rezeptorfunktion und damit auf die Feinabstimmung von Glutamat einwirken, sind daher denkbare Einflussfaktoren auf die normale Variationsbreite der Gedächtnisfunktion und der kognitiven Fähigkeiten auch bei gesunden Personen.

#### 1.4.3.2 Studien zur Assoziation von GRM3 und kognitiven Phänotypen

Das erste Mal mit Kognition in Zusammenhang gebracht wurde GRM3 in der Schizophreniestudie von Egan et al. (2004), in der das A-Allel von rs6465084 auch bei gesunden Kontrollpersonen mit verminderter kognitiver Leistung verbunden war. Diese Ergebnisse konnten in weiteren Studien nur in Teilbereichen repliziert werden. Einige neuere Studien, die sich explizit mit der Kognition bei Gesunden befassen, liefern zwar weitere Hinweise auf eine Assoziation von GRM3 zu kognitiven Phänotypen, insgesamt bleiben die Belege aber inkonsistent (siehe Tabellen 1.4 und 1.5, S. 50 f). Die untersuchten Phänotypen betreffen meist Gedächtnis- und Lernfunktionen, Aufmerksamkeit, kognitive Flexibilität und die Aktivierungsmuster verschiedener Gehirnregionen in der Bildgebung.

Die Studie von Egan und Kollegen (2004) hatte eine Assoziation von rs6465084 zur Schizophrenie ergeben. Für rs6465084 wurden dann weitere intermediäre kognitive Phänotypen der hippocampalen und präfrontalen Cortex-Funktion getestet, die bei der Schizophrenie häufig beeinträchtigt sind: kognitive Leistungen in einigen psychometrischen Tests, Gehirnaktivierungsmuster in der funktionellen Bildgebung und Genexpression in beteiligten Gehirnregionen. Dabei fanden sich bei Patienten und gesunden Kontrollpersonen signifikante Einflüsse des rs6465084-Genotyps auf das Wortlistenlernen ( $p=0,02$ ) und die Wortflüssigkeit ( $p=0,009$ ). Die GG-Homozygoten schnitten jeweils besser ab als die anderen Genotypen. Außerdem ergaben sich für zwei weitere SNPs Einflüsse auf Gedächtnis und Wortflüssigkeit. Unterschiede in der Gehirnaktivierung während kognitiver

Leistungen sind in der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) messbar. Der Genotyp AA zeigte bei gesunden Personen erhöhte präfrontale und hippocampale Aktivität, was auf ineffizienteres Arbeiten hindeutet. Weiterhin überprüfte man durch Magnetresonanzspektroskopie die Konzentration von N-Acetylaspartat (NAA), das als In-vivo-Marker für die Glutamatkonzentration und die neuronale Aktivität dient und dessen Verminderung bei Schizophrenie in vielen Studien nachgewiesen wurde. Der Genotyp AA hatte geringere präfrontale NAA-Konzentrationen als die Genotypen GG ( $p=0,02$ ) und AG ( $p=0,03$ ). Diese Ergebnisse konnten zwei Jahre später von der gleichen Arbeitsgruppe an einer kleinen Gruppe von gesunden Kontrollpersonen mit verbesserter MRT-Technik wiederholt werden (Marenco et al. 2006). Wieder war die NAA-Konzentration bei dem rs6465084-Genotyp AA im dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) niedriger als bei den G-Allel-Trägern. Die erwartete Assoziation zur Wortflüssigkeit konnte in dieser Probandengruppe jedoch nicht repliziert werden. An einer kleinen Zahl von Präparaten von Post-mortem-Gehirngewebe des DLPFC konnten Egan et al. (2004) schließlich noch einen Einfluss des Genotyps auf die Expression des glialen Glutamattransporters EAAT2 (der durch GRM3 reguliert wird und der die extrazelluläre Glutamatkonzentration beeinflusst) bei Patienten und Kontrollen nachweisen.

Insgesamt ist nach dieser Studie das A-Allel von rs6465084 bei Schizophrenen leicht überexprimiert und schneidet in gesunden wie betroffenen Individuen bei kognitiven Tests der präfrontalen Funktion schlechter ab; ferner ist es in der funktionellen In-vivo-Bildgebung assoziiert mit geringerer synaptischer Neurotransmission und Glutamatkonzentration im präfrontalen Cortex und Hippocampus. In postmortalem Gehirngewebe zeigte sich präfrontal reduzierte mRNA des Glutamattransporters EAAT2, der von GRM3 gesteuert wird. Diese Ergebnisse konnten in der Folge nur teilweise repliziert werden.

Die Studie von Mössner et al. (2008), die die von Egan et al. (2004) gezeigte Assoziation des A-Allels von rs6465084 zur Schizophrenie an einer größeren Stichprobe replizieren konnte, wies auch einen Einfluss dieses SNPs auf die Kognition nach, jedoch nur bei der Patientengruppe und nur auf einen der getesteten kognitiven Phänotypen. Bei den schizophrenen Patienten schnitt der Genotyp AA bei einem Test für Aufmerksamkeit im Vergleich zu den G-Allelträgern schlechter ab ( $p=0,008$ ). Der von Egan festgestellte Einfluss auf Wortflüssigkeit und Gedächtnis konnte nicht repliziert werden. Bei den gesunden Kontrollpersonen waren keine Assoziationen vorhanden. Eine Arbeit von Schwab und Kollegen (2008) konnte weder den Einfluss auf das Schizophrenierisiko noch auf die Kognition nachvollziehen.

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem Gen-Cluster, der GRM3 enthält, und der Gedächtnisleistung gesunder Personen konnte eine Studie aus der Schweiz zeigen. De Quervain und Papassotiropoulos (2006) genotypisierten 160 SNPs aus 47 Genen, die vor allem im Tier-



versuch mit dem episodischen Gedächtnis in Zusammenhang gebracht worden waren und die für verschiedene Rezeptoren und Moleküle der Signaltransduktion kodieren. Die Analyse ergab 16 SNPs und Haplotypen, die signifikant mit der episodischen Gedächtnisleistung korrelierten. Daraus wurde durch statistische Verfahren ein Cluster aus sieben genetischen Varianten, darunter einem GRM3-Haplotyp, gebildet, der signifikant mit gutem episodischem Gedächtnis assoziiert ist ( $p=0,00008$ ); aus dem Cluster errechnete individuelle genetische Punktwerte (*individual memory-associated genetic score, IMAGS*) waren signifikant mit der Gedächtnisleistung ( $p=0,000009$ ) assoziiert. In der fMRT-Bildgebung war ein höherer IMAGS auch mit vermehrter Aktivierung im Hippocampus während einer Lernaufgabe verbunden. Die Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass der untersuchte Gencluster zu interindividuellen Unterschieden im episodischen Gedächtnis und in der gedächtnisabhängigen Gehirnaktivierung beiträgt.

Welche SNPs aus GRM3 in die Berechnung eingingen, ergibt sich nicht aus der veröffentlichten Studie; einer neuen Arbeit (Jablensky et al. 2011), die die Ergebnisse von De Quervain et al. teilweise replizieren konnte, ist zu entnehmen, dass sich der GRM3-Haplotyp aus rs2189814 und rs6465084 zusammensetzte. Jablensky und Kollegen konnten den Einfluss dieses GRM3-Haplotyps auf das gesunde Gedächtnis bestätigen und darüber hinaus auch einen Einfluss auf die kognitiven Defizite von schizophrenen Patienten belegen; es zeigte sich jedoch bei den verschiedenen Gruppen ein entgegengesetzter Effekt: der Haplotyp CA war bei den Gesunden mit signifikant besserer (Kurzzeitgedächtnis:  $p=0,00007$ ; Langzeitgedächtnis:  $p=0,00006$ ) und bei der Untergruppe der kognitiv schwer beeinträchtigten Schizophreniepatienten mit schlechterer Gedächtnisleistung (Kurzzeitgedächtnis:  $p=0,012$ ; Langzeitgedächtnis:  $p=0,059$ ) assoziiert. Bei Betrachtung der Einzel-SNPs des Haplotyps war nur der SNP rs2189814 für den Effekt und seine Charakteristika verantwortlich; rs6465084 alleine war weder in den Patientengruppen noch in der Kontrollgruppe mit dem episodischen Gedächtnis oder mit dem Gesamt-IQ assoziiert.

Einen weiteren Beleg für den Einfluss von GRM3 auf kognitive Phänotypen bei gesunden Personen bringt die Studie von Baune et al. (2010), die die Fähigkeit zur Konzeptänderung (*set-shifting*), die als Teil der Exekutivfunktion angesehen wird, prüfte. Die Genotypenanalyse von 14 Marker-SNPs aus GRM3 ergab für einen SNP und drei ihn enthaltende Haplotypen eine signifikante Assoziation zu den *set-shifting*-Fähigkeiten ( $p=0,0005$ ).

Tabelle 1.4 bringt einen Überblick über diese Studien und macht deutlich, dass außer rs6465084 bisher nur wenige SNPs aus GRM3 hinsichtlich der Kognition bei Gesunden untersucht wurden. Tabelle 1.5 zeigt Details der Kognitionsstudien zu rs6465084.

*Tabelle 1.4: Überblick über Studien zur Assoziation von GRM3 mit kognitiven Phänotypen.*

Studie	Art	Teilnehmer	ethnische Zugehörigkeit	untersuchte SNPs																	Fragestellung und Ergebnisse						
				187993	274622	2282958	2189814	13242038	724226	917071	757656	6465084	2228595	2237554	2237562	1468412	17676277	2299225	7804100	7808623		1989796	1476455	10487055	weitere Gen-Cluster 1)		
Egan et al. 2004	Fam	193 S, 224 Geschw., 131 K	euro-amerikanisch																								+ episodisches Gedächtnis, Wortflüssigkeit
																											- weitere 6 kognitive Phäno- typen
		104 S, 102 Geschw.. 44 K																								+ NAA-Signal	
		65 K	euro-amerikanisch																							+ Aktivierungsmuster in Bildgebung	
	FK	10-19 S, 14-18 K	gemischt- amerikanisch																							+ Expression EAAT2	
Marenco et al. 2006		54 K	euro-amerikanisch																							+ NAA-Signal	
																										- Wortflüssigkeit	
De Quervain et al. 2006		336 K	schweizerisch																							+ episodisches Gedächtnis	
		32 K																								+ Aktivierungsmuster in Bildgebung	
Jablensky et al. 2011	FK	336 S	euro-australisch																							+/- episodisches Gedächtnis	
		172 K																						+/- episodisches Gedächtnis			
Schwab et al. 2008	Fam	88 Familien mit S, 148 S	deutsch, unga- risch, israelisch																							- Exekutivfunktion und Aufmerksamkeit	
Mössner et al. 2008	FK	198 S	deutsch																							+ Aufmerksamkeit	
		206 K	deutsch																						- 3 weitere kognitive Phänotypen		
Saune et al. 2010		98 K	europäisch																							+/- Exekutivfunktion	

1) Gen-Cluster enthält einen GRM3-Haplotyp aus rs6465084 und rs2189814.

FK: Fall-Kontroll-Studie; Fam: familienbasierte Studie; S: Schizophrenie; K: Kontrollperson; NAA: N-Acetylaspartat; EAAT: excitatory amino acid transporter.

+ : signifikante Assoziation; - : keine Assoziation.

**Tabelle 1.5: Überblick über Studien zur Assoziation von rs6465084 mit kognitiven Phänotypen (aufgeführt sind nur Studienergebnisse, die sich auf rs6465084 beziehen)**

Studie	Art	Teilnehmer	Ethnische Zugehörigkeit	Fragestellungen	Ergebnisse
Egan et al. 2004	Fam	193 S, 224 Geschwister, 131 K	euro- amerikanisch	Assoziation zu kognitiven Phänotypen: - episodisches Gedächtnis (2 Aufgaben aus WMS-R und California verbal learning Test) - Arbeitsgedächtnis (WCST und N-back-Tests) - Aufmerksamkeit (d' aus CPT) - Wortflüssigkeit (Wörter mit gleichem Anfangsbuchstaben aufzählen) - kognitive Flexibilität (Trail-making-Test B) - IQ (WAIS-R)	Genotyp GG signifikant besser bei: - episodischem Gedächtnis (California verbal learning Test (Wortlistenlernen): p=0,02) und - Wortflüssigkeit (p=0,009)
				Assoziation zu Aktivierungsmustern im fMRT bei Test für: - Arbeitsgedächtnis (N-back-Test) - episodisches Gedächtnis	Genotyp AA: - höhere Aktivierung (=ineffizienteres Arbeiten) im DLPFC; - verringerte Aktivierung im rechten Hippocampus
		65 K	euro- amerikanisch	Assoziation zu präfrontaler Konzentration von: - NAA	Genotyp AA: - NAA-Konzentration signifikant vermindert (p=0,02)
		104 S, 102 Geschw., 44 K	euro- amerikanisch	Assoziation zu präfrontaler Konzentration von: - GRM2/3 Protein - GRM3-mRNA - EAAT2-mRNA - EAAT3-mRNA (Negativkontrolle)	Genotyp AA: - Konzentration von EAAT2-mRNA signifikant niedriger bei Kontrollen: p=0,006 für kombinierte Lamina I, II, III und p=0,03 für Lamina IV,V,VI. Gesamtgruppe: p=0,003 für oberflächliche und p=0,095 für tiefe Lamina
Marenco et al. 2006	FK	präfrontales Gewebe von 14-18 K, 10-19 S	gemischt- amerikanisch	Assoziation zu präfrontaler Konzentration von: - NAA	Genotyp AA: NAA-Konzentration im rechten DLPFC signifikant vermindert (p=0,01)
				Assoziation zu kognitiven Phänotypen: - IQ (WAIS-R) - Wortflüssigkeit	keine signifikante Assoziation
		54 K	euro- amerikanisch	Assoziation zu episodisches Gedächtnis (Lernen und Erinnern von Gesicht-Berufspaaren)	signifikante Assoziation zu 7-Gen-Cluster, der GRM3-Haplotyp (incl. rs6465084) enthält (p=0,00008)
De Quervain et al. 2006		336 K	schweizerisch	Assoziation zu Aktivierungsmustern im fMRT bei Test für: - episodisches Gedächtnis (Lernen und Erinnern von Gesicht-Berufspaaren)	signifikante Assoziation zwischen Variation bei episodischem Gedächtnis und Aktivierung im Hippocampus
		32 K		Assoziation zu Aktivierungsmustern im fMRT bei Test für: - episodisches Gedächtnis (Lernen und Erinnern von Gesicht-Berufspaaren)	signifikante Assoziation zwischen Variation bei episodischem Gedächtnis und Aktivierung im Hippocampus

Fortsetzung der Tabelle und Erläuterung der Abkürzungen siehe nächste Seite

Studie	Art	Teilnehmer	Ethnische Zugehörigkeit	Fragestellungen	Ergebnisse
Jablenski et al. 2011	FK	336 S, davon 155 kognitiv beeinträchtigt, 121 kognitiv unauffällig, 60 nicht zuordenbar	euro- australisch	Assoziation zu -episodisches Gedächtnis (Rey Auditory Verbal Learning Test, RAVLT)	keine Assoziation zu rs6465084. Haplotyp CA (rs2189814C und rs6465084A) bei schwer beeinträchtigten S assoziiert mit schlechtem Gedächtnis (Kurzzeitgedächtnis: p=0,012; Langzeitgedächtnis: p=0,059)
		172 K	euro- australisch		keine Assoziation zu rs6465084. Haplotyp CA (rs2189814C und rs6465084A) signifikant assoziiert mit gutem Gedächtnis (Kurzzeit: p=0,00007; Langzeit: p=0,00006)
Schwab et al. 2008	Fam	88 Familien mit S, 148 S	deutsch, ungarisch, israelisch	Assoziation zu kognitiven Phänotypen: - Aufmerksamkeitsamkeit (Stroop Color-naming-Test) - kognitive Flexibilität (Trail-making-Test B)	keine signifikante Assoziation
Mössner et al. 2008	FK	198 S, 206 K	deutsch	Assoziation zu kognitiven Phänotypen: - selektive Aufmerksamkeitsamkeit (Zahlensymboltest) - kognitive Flexibilität (Trail-making-Test B) - Daueraufmerksamkeitsamkeit (d' aus CPT-IP) - Gedächtnis und verbales Lernen (VLMT)	S-Patienten: Genotyp AA signifikant schlechter bei selektiver Aufmerksamkeitsamkeit (p=0,008); keine Assoziation zu anderen Phänotypen. <u>Kontrollen</u> : keine Assoziation

FK: Fall-Kontroll-Studie; Fam: familienbasierte Studie; S: Schizophrenie; K: Kontrollperson; WMS-R: Wechsler memory scale – revised; WCST: Wisconsin card sorting test; CPT-IP: continuous performance test – identical pairs; WAIS-R: Wechsler adult intelligence scale – revised; fMRI: funktionelle Magnetresonanztomographie; DLPFC: dorsolateraler präfrontaler Cortex; NAA: N-Acetylaspartat; EAAT: excitatory amino acid transporter; VLMT: verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest.

#### 1.4.4 Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen bei GRM3

Die Interaktion zwischen Genen untereinander (Epistase) und zwischen Genen und Umwelt stellt eine weitere Dimension der komplexen Beziehung zwischen Genotyp und Phänotyp dar. Studien zu GRM3-Interaktionen zeigen, dass das Gen sowohl in Bezug auf das Schizophrenierisiko als auch in Bezug auf intermediäre Phänotypen der Schizophrenie mit anderen Genen und mit Umwelteinflüssen interagiert.

Dopamin als Neurotransmitter ist, ebenso wie Glutamat, essenziell an kognitiven Funktionen und der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt. Das Dopamingleichgewicht im präfrontalen Cortex wird unter anderem durch die Catechol-O-Methyltransferase (COMT), die am Dopaminabbau beteiligt ist, aufrecht erhalten. Der funktionelle val158met-Polymorphismus des COMT-Gens beeinflusst die Aktivität des Enzyms und ist mit der Effizienz der corticalen kognitiven Leistungen sowie dem Schizophrenierisiko assoziiert (Dickinson & Elvevåg 2009). In zwei Studien konnte eine COMT x GRM3 - Interaktion sowohl für die Schizophrenie wie auch für die Leistung des Arbeitsgedächtnisses bei Gesunden nachgewiesen werden (Überblick in Tabellen 1.6 und 1.7, Seite 55 und 56). Eine deutsch-amerikanische Studie (Nicodemus et al. 2006) konnte ein erhöhtes Schizophrenierisiko für rs6465084-G-Allelträger aus dem Kollektiv der amerikanischen NIMH Sibling Study zeigen, die gleichzeitig den COMT-Risikohaplotyp mit val/val-Variante tragen. Dies ist inkonsistent zu früheren Ergebnissen dieser Arbeitsgruppe, bei denen das A-Allel von rs6465084 das Risiko getragen hatte (Egan et al. 2004). An einer kleinen Subgruppe von gesunden Kontrollpersonen aus dem amerikanischen NIMH-Kollektiv wies diese Arbeitsgruppe den Einfluss der COMT x GRM3 - Epistase auch auf die Neurophysiologie des Arbeitsgedächtnisses nach (Tan et al. 2007). Die Kombination der beiden ungünstigen Varianten (COMT Val/Val-Homozygote und GRM3-rs6465084-AA-Homozygote) zeigte in der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) eine breitere (das heißt ineffizientere) präfrontale Aktivierung und eine geringere frontoparietale Vernetzung als die anderen Genotyp-Kombinationen.

Die Expression von GRM3 wird unter anderem durch Hypoxie reguliert (Schmidt-Kastner et al. 2006; Harrison et al. 2008). Zu den Umwelteinflüssen, die mit genetischen Risikofaktoren interagieren und das Schizophrenierisiko erhöhen, gehören nach zwei weiteren Studien auch Geburtskomplikationen, die zu Hypoxie führen. Nicodemus und Kollegen (2006) konnten zeigen, dass schwere Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen das genetische Schizophrenierisiko verstärken. Ein SNP aus GRM3 war deutlich häufiger an Patienten mit schweren Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen weitergegeben worden; bei den Kontrollpersonen zeigte sich keine Assoziation zwischen Genotyp und Komplikationen.

Hypoxie während der Geburt scheint auch das Hippocampusvolumen zu beeinflussen. Haukvik und Kollegen (2010) konnten zeigen, dass schwere Geburtskomplikationen mit vergrößertem Hippocampusvolumen im MRT assoziiert waren. Dieser Effekt trat bei Gesunden und bei Schizophrenen auf und war in beiden Gruppen mit dem Genotyp des GRM3-SNPs rs13242038 assoziiert. Die Allelvarianten alleine waren nicht mit dem Hippocampusvolumen assoziiert, sondern der Effekt trat nur bei Probanden mit Geburtskomplikationen auf. Die anderen untersuchten SNPs, darunter auch rs6465084, hatten keinen Einfluss (Überblick in Tabelle 1.6, Details zu rs6456084 in Tabelle 1.7).

### 1.4.5 GRM3 und Pharmakologie

#### 1.4.5.1 *Der metabotrope Glutamatrezeptor 3 als Zielstruktur von Pharmaka*

Das pharmakologische Interesse an den metabotropen Glutamatrezeptoren der Gruppe II (mGluR2 und mGluR3) wurde durch Arbeiten geweckt, in denen gezeigt werden konnte, dass durch die Aktivierung von mGluR2/3 die durch NMDA-Rezeptor-Antagonisten induzierbaren Psychosen und kognitiven Beeinträchtigungen vermindert werden können (Moghaddam & Adams 1998; Moghaddam et al. 1997). Die mGluR2/3 gelten heute als mögliche Angriffspunkte für die Behandlung der Schizophrenie (Überblicke bei: Chaki 2010; Chaki & Hikichi 2011; Fell et al. 2012; González-Maeso & Sealfon 2009; Harrison et al. 2008; Marek 2010; Moghaddam & Javitt 2011; Wallace et al. 2011), vor allem seit es erste klinische Erfolge gibt (Patil et al. 2007); weiterhin für die Behandlung der Angststörung (Swanson et al. 2005; Dunayevich et al. 2007), der Depression (Hashimoto 2011; Yasuhara & Chaki 2010) und weiterer psychiatrischer Erkrankungen (Gravius et al. 2010). In Tierversuchen scheinen allerdings mGluR2 und nicht mGluR3 die pharmakologische Wirkung zu vermitteln (Moreno et al. 2009).

#### 1.4.5.2 *Studien zur Assoziation von GRM3 und Medikamentenwirkungen*

Pharmakogenetische Studien versuchen das Verständnis für die biologischen Grundlagen der Wirkungsweise von Medikamenten zu erweitern und wollen vor allem herausfinden, aufgrund welcher genetischen Mechanismen Menschen individuell unterschiedlich auf manche Pharmaka ansprechen. Für GRM3 liegen einige Hinweise auf eine Assoziation zu Medikamentenwirkung vor; die Ergebnisse für die einzelnen SNPs sind jedoch uneinheitlich (siehe Tabellen 1.6 und 1.7)

Der GRM3-SNP rs274622, der in einer möglichen Promoterregion liegt, war in der ersten derartigen Studie (Bishop et al. 2005) mit gutem Ansprechen der Negativsymptome schizophrener Patienten auf Olanzapin, ein atypisches Neuroleptikum, assoziiert. Dieser SNP zeigte in einer weiteren Fallstudie (Fijal et al. 2009) keine Assoziation mit dem Ansprechen auf Risperidon (eben-

*Tabelle 1.6: Überblick über Studien zur Gen x Gen und Gen x Umweltinteraktion bei GRM3 sowie pharmakogenetische Studien zu GRM3.*

Studie	Art	Teilnehmer	ethnische Zugehörigkeit	untersuchte SNPs																		Fragestellung und Ergebnisse		
				187993	274622	2282958	2189814	13242038	724226	917071	757656	6465084	2228595	2237554	2237562	1468412	17676277	2299225	7804100	7808623	1989796		1476455	10487055
Nicodemus et al. 2006	FK	296 S, 370 K	euro-amerikanisch	+						-		+	-			+								+/- S bei COMT x GRM3
	FK	501 S, 627 K	deutsch	-						-		-	-			+								
Tan et al. 2007		29 K	euro-amerikanisch									+												+ Arbeitsgedächtnis bei COMT x GRM3
Nicodemus et al. 2008	Fam	116 Familientrios mit S, 134 K	euro-amerikanisch	-	-			-	-	-		-	-		-			-	+				-	+/- G x E: S x Geburtskomplikation
Haukvik et al. 2010	FK	54 S, 53 K	schwedisch	-			+			-		-			-									+/- G x E: Hippocampus-Volumen x Geburtskomplikation
Bishop et al. 2005	F	42 S	euro-amerikanisch		+				-	-					-					-	-			+/- Ansprechen auf Clozapin bei S
Fijal et al. 2009	F	78 S	afro-amerikanisch		-				+	-					-									+/- Ansprechen auf Risperidon bei S
	F	65 S	euro-amerikanisch		-				+	-					-									+/- Ansprechen auf Risperidon bei S
Bishop et al. 2011	F	95 S	gemischt-amerik.		-				-	-		-							+	+				+/- Nichtansprechen auf Pharmaka bei S
Tsunoka et al. 2009		117 D	japanisch									-												- Ansprechen auf Fluvoxamin bei D

FK: Fall-Kontroll-Studie; Fam: familienbasierte Studie; S: Schizophrenie; K: Kontrollperson; D: Depression; G x E: Gen-Umwelt-Interaktion. + : signifikante Assoziation; – : keine Assoziation.

**Tabelle 1.7: Studien zu Gen x Gen- und Gen x Umweltinteraktionen bei rs6465084 sowie pharmakogenetische Studien zu rs6465084**

Studie	Art	Teilnehmer	Ethnische Zugehörigkeit	Fragestellungen	Ergebnisse
Nicodemus et al. 2006	FK	296 S, 370 K	euro-amerikanisch	Assoziation zu:	signifikante Assoziation COMT-val/val-Haplotyp x rs6465084-G-Allelträger:
				- Schizophrenie bei Epistase COMT-Haplotyp x GRM3-rs6465084-Genotyp	- Risiko für Schizophrenie erhöht (p=0,034)
	Fam	296 Familien mit S	euro-amerikanisch		keine Assoziation
	FK	501 S, 627 K	deutsch		kein Ergebnis angegeben
Tan et al. 2007		29 K	euro-amerikanisch	Assoziation zu	signifikante Assoziation COMT-val/val + GRM3-rs6465084-AA:
				- Gehirnmotivierungsmuster im fMRT bei Prüfung von: Arbeitsgedächtnis (N-back-Test) bei Epistase COMT-val158met x GRM3-rs6465084-Genotyp	- höhere Aktivierung (=ineffizientes Arbeiten) im DLPFC (p=0,039); - geringere Netzwerkaktivierung zwischen DLPFC und PPC (p=0,001); - kompensatorisch erhöhte Netzwerkaktivierung zwischen VLPFC und PPC (p=0,001)
Nicodemus et al. 2008	Fam	116 Familientrios mit S, 134 K	euro-amerikanisch	Gen x Umwelt-Interaktion: Schizophrenie x Geburtskomplikation	keine Assoziation
Haukvik et al. 2010	FK	54 S, 53 K	schwedisch	Gen x Umwelt-Interaktion: Hippocampus-Volumen x Geburtskomplikation	keine Assoziation
Bishop et al. 2011	F	95 S (therapieresistent)	gemischt-amerikanisch	Assoziation zu: - Nichtansprechen auf Antipsychotika	keine Assoziation
Tsunoka et al 2009	F	117 D	japanisch	Assoziation zu: - Ansprechen auf Fluvoxamin bei D	Keine Assoziation

FK: Fall-Kontroll-Studie; Fam: familienbasierte Studie; S: Schizophrenie; K: Kontrollperson; D: Depression; DLPFC: dorsolateraler präfrontaler Cortex; PPC: posteriorer parietaler Cortex; VLPFC: ventrolateraler präfrontaler Cortex.



falls ein atypisches Neuroleptikum). Fijal und Kollegen konnten jedoch eine Assoziation von rs724226 mit einer deutlichen Verbesserung der Symptome unter Risperidon nachweisen ( $p=0,016$  für Afro-Amerikaner und  $p=0,026$  für Euro-Amerikaner). Manche Patienten sprechen auf keinerlei Medikation an. Die Arbeitsgruppe um Bishop (Bishop et al. 2011) konnte eine signifikante Assoziation therapierefraktärer Psychosen mit zwei SNPs am 3'-Ende des Gens feststellen: rs1989796 und rs1476455 waren bei therapierefraktären schizophrenen Patienten signifikant mit Psychosen, nicht aber mit Negativsymptomen assoziiert. Für rs6465084 wurde keine Assoziation festgestellt. Für das Antidepressivum Fluvoxamin konnte in einer japanischen Studie keine statistische Assoziation mit dem rs6465084-Genotyp gezeigt werden (Tsunoka et al. 2009).

Insgesamt sind die genetischen Studien zu GRM3 inkonsistent. Einerseits gibt es moderate Hinweise darauf, dass GRM3 die normale Variabilität von kognitiven Phänotypen bei Gesunden beeinflusst und zur Suszeptibilität für Schizophrenie und bipolare Störung beiträgt, insbesondere für einen mit psychotischen Symptomen verbundenen Phänotyp. Andererseits waren ursprünglich berichtete positive Assoziationen in nachfolgenden Studien oft nicht zu wiederholen. Alle bisher untersuchten SNPs in GRM3 sind nicht-kodierend oder synonym. Es gibt erste Hinweise auf Mechanismen, die hinter den Assoziationen stehen, zum Beispiel auf veränderte Spleißmuster, und auf epistatische Effekte, über die der Einfluss auf Gehirnphysiologie und Verhalten zustande kommen könnte.

## 1.5 Fragestellung dieser Studie

Ein erheblicher genetischer Einfluss auf die interindividuelle Varianz der Intelligenz gilt heute als gesichert, wobei von einer Vielzahl beteiligter Gene auszugehen ist. Assoziationsstudien stellen ein gutes Instrument dar, um die Assoziation einzelner genetischer Polymorphismen mit der allgemeinen Intelligenz  $g$  und weiteren kognitiven Phänotypen zu untersuchen. Diese Studie folgt einem klassischen Kandidatengen-Ansatz: GRM3, das Gen des metabotropen Glutamatrezeptors 3, hat hohe biologische Plausibilität für einen Einfluss auf Gehirnfunktionen, die mit kognitiven Funktionen in Zusammenhang stehen. Bisherige genetische Assoziationsstudien zu diesem Gen ergaben widersprüchliche Ergebnisse oder waren nicht replizierbar. Der SNP rs6465084 wurde bisher mit kognitiven Phänotypen bei Gesunden und auch mit dem Risiko für Krankheiten, die mit kognitiven Defiziten einhergehen können (Schizophrenie, bipolare Störung und Depression), in Verbindung gebracht. Dieser SNP soll hier in einer großen Stichprobe von über 1200 gesunden Personen auf seine Assoziation mit der psychometrischen Intelligenz hin untersucht werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studienmodalitäten

#### **Art der Studie und Vorbedingungen für die Durchführung der Studie**

Diese Arbeit ist Teil einer großen Fall-Kontroll-Studie zur Genetik und Neurobiologie psychiatrischer Erkrankungen mit mehreren tausend Patienten und Kontrollpersonen an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München (siehe z. B. Nothdurfter et al 2012). Die hier vorgelegte Arbeit untersucht die Assoziation der beiden Allele und der drei Genotypen des SNP rs6465084 des GRM3-Gens mit den kognitiven Leistungen psychiatrisch gesunder Probanden. Messinstrument für die Intelligenz war der HaWIE-R; das genetische Material wurde aus Blutproben der Probanden extrahiert und genotypisiert. Die Studie wurde mit der Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Alle Teilnehmer wurden über die Zielsetzung und die Inhalte der Studie informiert, über die anonyme Verwendung der erhobenen Daten und über mögliche Risiken aufgeklärt und gaben dann eine schriftliche Einverständniserklärung ab. Die Teilnahme war freiwillig.

#### **Rekrutierung der Probanden, Ein- und Ausschlusskriterien**

Die Probanden waren gesunde Erwachsene deutscher Herkunft aus der Region München. Um in die Studie eingeschlossen zu werden, mussten die Testpersonen mindestens 18 Jahre alt und beide Eltern deutscher Herkunft sein. Ausschlusskriterien waren für die Kognition relevante somatische Erkrankungen und alle psychiatrischen Erkrankungen (einschließlich Alkohol-, Drogen- und Medikamentenabusus, Suizidversuche, affektive Störungen und Essstörungen) des Teilnehmers selbst und seiner erst- und zweitgradigen Verwandten.

Die Probanden wurden in einem mehrstufigen Verfahren ausgewählt. Zunächst wurden Personen, die durch das Münchner Einwohneramt per Zufall ausgewählt worden waren, angeschrieben, über Art und Ziele der Studie informiert und zur Teilnahme eingeladen. Interessenten wurden telefonisch einem standardisierten Screening nach psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen unterzogen. In dieser Hinsicht unauffällige Personen wurden dann schriftlich (Anamnesebogen I, eigene Entwicklung durch die Arbeitsgruppe) befragt. Neben allgemeinen Angaben zur Person wurden detaillierte Daten zu bisherigen körperlichen und psychiatrischen Erkrankungen und Behandlungen erhoben. Personen, die alle Kriterien erfüllten, wurden zu einem ausführlichen klinischen Interview in die Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München einbestellt.

## 2.2 Klinisches Interview

### **Anamnese, körperliche und neurologische Untersuchung**

Zum Ausschluss studienrelevanter körperlicher Erkrankungen wurde in der Klinik mit allen Probanden ein Anamnesegespräch geführt, und sie wurden orientierend körperlich und neurologisch untersucht. Dabei wurden Hirnnervenfunktionen, Motorik und Koordination erfasst. Teilnehmer, die 60 Jahre alt oder älter waren, wurden zusätzlich auf kognitive Leistungseinbußen hin untersucht. Aus der Studie ausgeschlossen wurden Personen, die im Mini-Mental Status Test (Folstein et al. 1975) weniger als 26 der 30 möglichen Punkte erreichten.

### **Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)**

Belastungen durch kritische Lebenssituationen wurden mit Hilfe des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars (LEBI; Richter & Guthke 1996) erfasst. Dabei werden durch ein strukturiertes Interview bisherige Lebensereignisse und ihre Verarbeitung sowie Lebensziele und Wertvorstellungen der Probanden erfragt und daraus ein Punktwert für Belastungen ermittelt.

### **Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID)**

Das klinische Gespräch wurde anhand des Strukturierten Klinischen Interviews für DSM-IV (SKID; Wittchen et al. 1997) geführt. Es dient der Diagnostik klinisch relevanter psychopathologischer Befunde nach DSM-IV und gliedert sich in SKID I und SKID II. Mit Hilfe des SKID I werden Störungen der Achse I (klinische Störungen und andere klinisch relevante Probleme) diagnostiziert. Dazu gehören affektive Syndrome, psychotische Syndrome, psychotische Störungen, affektive Störungen, Missbrauch von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen und Essstörungen. Das SKID II erfasst Störungen der Achse II (Persönlichkeitsstörungen). Zudem wurden Störungen der Achse IV (psychosoziale und umgebungsbedingte Beeinträchtigungen) und der Achse V (globale Beurteilung der Leistungsfähigkeit) erhoben und aufgezeichnet. Es wurden nur Probanden in die Studie aufgenommen, bei denen Störungen der Achsen I und II ausgeschlossen werden konnten.

### **Family History Assessment Module (FHAM)**

Die psychiatrische Familienanamnese der Probanden wurde durch das *Family History Assessment Module* (FHAM; Rice et al. 1995) beurteilt. Versuchspersonen, bei deren Verwandten ersten oder zweiten Grades eine Vorgeschichte von psychiatrischen Diagnosen oder Therapien eruiert werden konnte, wurden nicht in die Studie aufgenommen.

### **Erhebung weiterer Daten**

Im Rahmen der Gesamtstudie wurden durch Fragebögen weitere Daten und Persönlichkeitseigenschaften erhoben, darunter der schulische und berufliche Werdegang, das Verhalten im Kindes-

und Jugendalter, Partnerschaftsverhalten und die soziale und finanzielle Situation (Anamnesebogen II, eigene Entwicklung durch die Arbeitsgruppe).

## **2.3 Neuropsychologische Testung**

Mit den Studienteilnehmern wurde der Wortschatztest (WST) und der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Fassung (HaWIE-R) durchgeführt.

### **2.3.1 Wortschatztest**

Der Wortschatztest (Schmidt & Metzler 1992) dient der schnellen Einschätzung des verbalen Intelligenzquotienten. Er korreliert hoch mit dem HaWIE Verbal- und Gesamt-Intelligenzquotienten (Satzger et al. 2002).

### **2.3.2 Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Fassung**

Der HaWIE (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene) ist ein häufig verwendeter Intelligenztest für Erwachsene, der auf Wechslers Intelligenzskalen basiert. Er umfasst sprachabhängige und sprachunabhängige Untertests, die für die jeweilige Altersgruppe einzeln normiert sind; daraus ergibt sich ein verbaler und ein nichtverbaler IQ. Die einzelnen Untertests korrelieren positiv miteinander, so dass der Gesamt-IQ eine ausreichende interne Konsistenz aufweist und die allgemeine Intelligenz im Sinne von Spearmans g-Faktor gemessen werden kann. Er misst neben der allgemeinen Begabung auch bildungsabhängige Faktoren und kognitive Phänotypen wie Konzentrationsvermögen, psychomotorische Schnelligkeit, visuell-motorische Koordination und Beobachtungsgenauigkeit. Der HaWIE wurde, ebenso wie die amerikanische Vorlage, bereits mehrfach revidiert, zuletzt im Jahr 2006 (Wechsler Intelligenztest für Erwachsene, WIE). In dieser Studie wurde mit der 2. Auflage der revidierten Fassung von 1991 (Tewes 1994) gearbeitet.

Zur Durchführung des Tests liegt ein Handbuch mit Anweisungen und Testmaterial (Bildvorlagen, Farbwürfel, Puzzleteile) vor. Der Test besteht aus elf Untertests, die sich in einen Verbalteil und einen Handlungsteil zusammenfassen lassen. Die Ergebnisse der Verbaltests sind abhängig von Bildungsgrad und Lernerfahrungen der Probanden. Der Handlungsteil, bestehend aus fünf Untertests, misst die praktische Intelligenz, bei der auch die Lösungsgeschwindigkeit mit einfließt, und ist stärker altersabhängig.

Die Subtests bestehen aus jeweils mehreren Teilaufgaben mit steigendem Schwierigkeitsgrad, die durch freie Antworten oder durch den praktischen Umgang mit Testmaterialien (z. B. Farbwürfeln)

zu lösen sind. Verbal- und Handlungsuntertests wechseln sich ab. Bei einigen Untertests sind Zeitvorgaben gegeben. Für die meisten Untertests sind auch Abbruchkriterien festgelegt.

### 2.3.2.1 **Die Subtests des HaWIE-R im einzelnen**

1. *Allgemeines Wissen:* 24 Fragen zunehmender Schwierigkeit, die über das allgemeine Wissensniveau die intellektuellen Kapazitäten und die Aufgeschlossenheit gegenüber der Umwelt widerspiegeln sollen. Pro richtiger Frage gibt es einen Rohpunkt, nach fünf aufeinanderfolgenden falsch oder nicht beantworteten Fragen wird abgebrochen.
2. *Bilderergänzen:* Getestet werden soll die Fähigkeit, bei visuellen Vorlagen zwischen wichtigen und unwichtigen Details zu unterscheiden. Dem Probanden werden 17 gezeichnete Bildvorlagen vorgelegt, auf denen jeweils ein für den dargestellten Gegenstand oder die Situation relevantes Detail fehlt, das benannt werden soll. Es sind 17 Rohpunkte erreichbar, nach drei falsch oder nicht beantworteten Fragen in Folge wird abgebrochen.
3. *Zahlennachsprechen:* Diese Aufgabe erfasst das Zahlengedächtnis, das verbale Kurzzeitgedächtnis und die Aufmerksamkeit. Leistungsausfälle können hier auf spezielle klinische Defekte oder hirnorganische Erkrankungen hindeuten. Die Aufgabe hat zwei Teilaufgaben:
  - a) jeweils zwei drei- bis neunstellige Ziffernfolgen, die vom Testleiter vorgelesen werden und nachgesprochen werden müssen (insgesamt 14 Ziffernfolgen) und
  - b) 14 zwei- bis achtstellige Ziffernfolgen, die ebenfalls vorgesprochen werden und in umgekehrter Reihenfolge wiedergegeben werden müssen.Jeder Testteil wird abgebrochen, wenn beide Zahlenreihen einer Länge (z. B. beide fünfstelligen Zahlen) falsch wiedergegeben werden. Maximal sind 28 Rohpunkte möglich.
4. *Bilderordnen:* Dieser Untertest prüft die visuelle Wahrnehmung, die Fähigkeit, soziale Handlungsabläufe zu erkennen und einzelne Aspekte von Vorgängen richtig einzuschätzen, sowie logisches Denken und soziale Intelligenz. Der Test besteht aus zehn Serien von Bildern auf Kärtchen, die innerhalb der vorgegebenen Zeit in eine logische Reihenfolge zu bringen sind, so dass sie kleine Geschichten darstellen. Wenn vier Aufgaben in Folge nicht gelöst wurden, wird abgebrochen. Pro Aufgabe sind je nach Lösungsdauer bis zu sechs Rohpunkte erreichbar; insgesamt sind in diesem Untertest maximal 56 Punkte möglich.
5. *Wortschatztest:* Der Test überprüft Lernfähigkeit, Informationsbreite und Sprachentwicklung anhand der sprachlichen Kenntnisse und gilt als sehr gutes Maß für die allgemeine Intelligenz. 32 Begriffe sollen umschrieben und in ihrer Bedeutung erklärt werden. Der Testleiter entscheidet anhand einer Liste mit möglichen Antworten über die Richtigkeit der Antwort.

Nach fünf falsch oder nicht beantworteten Fragen wird abgebrochen. Es gibt maximal 32 Rohpunkte.

6. *Mosaiktest*: Erfasst wird die räumliche Vorstellungsfähigkeit, die Fähigkeit, Formen zu analysieren, ein Ganzes in seine Teile zu zerlegen und allgemein das problemlösende Denken. Der Mosaiktest gilt als ausgezeichnetes Maß für die allgemeine Intelligenz. Der Proband erhält neun mehrfarbige Würfel, deren Seiten entweder einfarbig sind oder aus zwei verschiedenfarbigen Dreiecken bestehen, und neun Kärtchen mit farbigen Mustern, die er mit den Würfeln nachbauen soll. Es gibt zeitliche Grenzen, innerhalb derer die Aufgaben gelöst werden müssen. Die erreichbaren Punkte pro Aufgabe variieren je nach Schwierigkeit und benötigter Zeit. Insgesamt sind 51 Punkte erreichbar. Nach drei nicht oder falsch gelösten Aufgaben wird der Test abgebrochen.
7. *Rechnerisches Denken*: Es sind 14 Rechenaufgaben zunehmender Schwierigkeit im Kopf zu lösen. Erfasst werden sollen Zahlengedächtnis, Konzentrationsfähigkeit und geistige Beweglichkeit. Die Ergebnisse sind deutlich beeinflusst durch schulische und berufliche Erfahrung. In den ersten neun Aufgaben kann ein Rohpunkt pro Aufgabe erzielt werden. Für die letzten fünf Aufgaben gibt es Zeitvorgaben; pro Aufgabe werden je nach Lösungszeit ein oder zwei Punkte vergeben. Maximal sind 19 Rohpunkte erreichbar. Nach drei nicht oder falsch gelösten Aufgaben wird abgebrochen.
8. *Figurenlegen*: Dieser Test soll die Vertrautheit mit Formen sowie die visuell-analytische Fähigkeit, Teil und Ganzes in Beziehung zu setzen, prüfen. Auch die qualitative Analyse der Lösungsstrategien ist möglich. Vier Puzzles mit asymmetrischen Teilen sind innerhalb von vorgegebenen Zeitspannen zu Figuren zusammenzufügen. Punkte werden je nach benötigter Zeit vergeben. Es sind bis zu 41 Punkte möglich. Alle vier Aufgaben werden durchgeführt.
9. *Allgemeines Verständnis*: Geprüft werden sollen die praktische Urteilsfähigkeit und die Fähigkeit, Erfahrungen zu verwerten. Es werden 13 Fragen aus verschiedenen Alltagsbereichen gestellt. Mögliche Antworten werden im Handbuch aufgeführt. Je nach Qualität der Antwort gibt es pro Frage null, ein oder zwei Punkte. Insgesamt sind 26 Rohpunkte möglich; Abbruch nach vier falsch oder nicht beantworteten Fragen in Folge.
10. *Zahlen-Symbol-Test*: Dieser Test misst die psychomotorische Geschwindigkeit und gilt als gutes Maß für Aufmerksamkeit und Konzentrationsfähigkeit. Jeder Ziffer zwischen 1 und 9 ist je ein grafisches Symbol zugeordnet. Der Proband bekommt lange Ziffernreihen vorge-

legt und muss innerhalb von 90 Sekunden unter jeder Ziffer das entsprechende Symbol eintragen. Jedes richtig zugeordnete Symbol bringt einen Punkt. Es sind maximal 90 Punkte möglich.

11. *Gemeinsamkeiten finden*: Geprüft werden sollen die logische Struktur der Denkprozesse, Konzeptbildung, sprachliches Ausdrucksvermögen und Abstraktionsfähigkeit. Zu 16 vorgegebenen Begriffspaaren soll die Testperson jeweils einen Überbegriff finden. Pro Antwort sind null bis zwei Punkte möglich, insgesamt können 32 Punkte erreicht werden. Nach vier falsch oder nicht beantworteten Fragen wird der Untertest abgebrochen.

Die Untertests 1, 3, 5, 7, 9 und 11 machen den Verbalteil des HaWIE-R aus, die Untertests 2, 4, 6, 8 und 10 bilden den Handlungsteil.

### 2.3.2.2 *Testauswertung*

Bei der Auswertung des HaWIE-R werden ein Verbal-IQ, ein Handlungs-IQ und ein Gesamt-IQ berechnet. Zunächst wird für jeden Subtest die Anzahl der Rohpunkte, welche die Testperson erreicht hat, berechnet und dann für jeden Subtest einzeln mit Hilfe einer Tabelle in äquivalente Wertpunkte übertragen. Diese können dann anhand von altersspezifischen Tabellen in die für die Intelligenzquotientenberechnung relevanten Wertpunkte A transformiert werden. Die Wertpunkte A sind die Abweichungswerte von den Erwartungswerten für der Altersgruppe 20 – 34 Jahre. Aus den Wertpunkten A können der Verbal-IQ, der Handlungs-IQ und der Gesamt-IQ berechnet werden. Für die Bestimmung der Abweichung von anderen Referenzgruppen können Wertpunkte B ermittelt werden, die dann eine weitergehende Interpretation der Testergebnisse zulassen. Der Gesamt-IQ hat in jeder Altersgruppe einen Erwartungswert von 100 und eine Standardabweichung von 15. Er repräsentiert das allgemeine geistige Leistungsvermögen des Probanden. Unterschiede zwischen Verbal- und Handlungs-IQ deuten auf eher verbal-theoretische oder praktische Begabungen hin.

### 2.3.2.3 *Gütekriterien*

Objektivität: Die Durchführungsobjektivität ist durch den Individualtest-Charakter des HaWIE-R beeinträchtigt, kann jedoch aufgrund der detaillierten Testanweisungen als gegeben angesehen werden. Auch die Interpretationsobjektivität ist als sichergestellt anzusehen. Die Auswertungsobjektivität ist durch die zur Verfügung stehenden Beurteilungskriterien weitgehend möglich; bei den Subtests *Wortschatztest*, *Allgemeines Verständnis* und *Gemeinsamkeiten finden* bestehen indes gewisse Freiräume in der Vergabe von Testpunkten.

**Reliabilität:** Verschiedene Faktorenanalysen zeigen, dass der Test sehr reliabel ist. Die inneren Konsistenzen der Untertests liegen bei 0,71 bis 0,96, für den Verbal-IQ bei 0,96, für den Handlungs-IQ bei 0,90 und für den Gesamt-IQ bei 0,96 (Tewes 1994; Amelang & Zielinski 2002).

**Validität:** Verbal- und Handlungs-IQ korrelieren je nach Stichprobe zwischen 0,65 und 0,73; die konzeptuelle Unterscheidung in Verbal- und Handlungs-IQ hat also eine schwache empirische Rechtfertigung; es liegen Hinweise auf eine Kriteriumsvalidität vor; weitere Validitätsnachweise fehlen jedoch (Amelang & Zielinski 2002).

**Normierung:** Der HaWIE-R wurde an 2000 westdeutschen Testpersonen im Alter von 16 bis 74 Jahren, die in neun Altersgruppen eingeteilt waren, normiert. Männer und Frauen waren gleich verteilt; der Bildungsstatus der Standardisierungsstichprobe war repräsentativ für den Bevölkerungsquerschnitt.

## 2.4 Laborverfahren

Um mögliche Assoziationen zwischen einem Polymorphismus im GRM3-Gen und den Ergebnissen des Intelligenztests zu untersuchen, wurde von allen Versuchspersonen genetisches Material gewonnen und genotypisiert.

### 2.4.1 DNA-Extraktion

*Tabelle 2.1: Material und Geräte für die DNA-Extraktion*

<b>Material</b>	<b>Hersteller</b>
EDTA-Monovetten	Firma Sarstedt
PBS-Puffer (aus Reagenzien zur Eigenherstellung)	Firma Carl Roth
Qiagen Protease	Firma Qiagen
QIAamp DNA Blood Maxi Kit	Firma Qiagen
Puffer AL	Firma Qiagen
Ethanol	Firma Carl Roth
QIAamp Maxi Spin Column	Firma Qiagen
Puffer AW1	Firma Qiagen
Puffer AW2	Firma Qiagen
Puffer AE	Firma Qiagen

Die zur Genotypisierung benötigte DNA wurde aus Blutproben gewonnen. Dazu wurde allen Probanden etwa 7 ml venöses Blut in EDTA-Monovetten abgenommen.



### **Vorbereitung der Blutproben**

Der durch Zentrifugieren vom Plasma getrennte Blutkuchen wurde zunächst bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert und zur Weiterverarbeitung aufgetaut und mit PBS-Puffer auf etwa 10 ml Volumen gebracht.

Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte mit dem QIAamp DNA Blood Maxi Kit nach den Anweisungen des zugehörigen Handbuchs (Qiagen 2005).

### **Zelllyse**

Zur Zelllyse wurde der resuspendierte Blutkuchen mit 500  $\mu\text{l}$  Qiagen Protease versetzt, dann wurden 12 ml Guanidin-Hydrochlorid-haltiger Lysepuffer (Puffer AL) zugegeben, die Lösung eine Minute lang auf einem Vortexer gemischt und anschließend 30 Minuten lang bei  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  im Wasserbad inkubiert. Die Proteine werden dadurch denaturiert und inaktiviert und die Hydrathülle der Nukleinsäuren entfernt – eine wichtige Voraussetzung für die nun folgende Bindung der DNA an eine Silikagelmembran.

### **Bindung der DNA an Silikagelmembran**

Die DNA-Lösung wurde mit 10 ml Ethanol versetzt, in zwei Schritten auf eine Silikagelsäule (QIAamp Maxi-Säule) gegeben und bei 3000 rpm jeweils drei Minuten lang zentrifugiert. Durch die im Lysat herrschenden pH- und Salzbedingungen bindet die DNA an die Silikagelmembran, während RNA und nukleinsäurebindende Proteine ungebunden bleiben.

### **Reinigung der DNA**

Um die verbleibende RNA- und Proteinkontamination zu entfernen, wurde 5 ml Guanidin-HCl-haltiger Puffer (Puffer AW1) zugegeben und bei 4000 rpm zentrifugiert. Um den Puffer zu entfernen, folgte ein weiterer Waschschriff mit 5 ml ethanolhaltigem salzarmem Puffer (Puffer AW2) und 15-minütiger Zentrifugation bei 4000 rpm. Durch dieses Zentrifugieren werden auch Ethanolreste aus der Membran entfernt, die die Elution stören würden.

### **Elution der DNA von der Silikagelmembran**

Die Trennung der DNA von der Silikagelmembran erfolgte durch zweimalige fünfminütige Inkubation der Membran mit 1 ml Tris-Puffer (Puffer AE) und anschließendes Zentrifugieren bei 5000 rpm für zwei Minuten. Die gewonnene DNA-Lösung wurde bis zur Weiterverwendung bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert.

## **2.4.2 Einstellung der DNA-Konzentration**

Für die weitere Verarbeitung wurde die Konzentration aller extrahierten DNA-Lösungen bestimmt und auf einen Wert von 50 ng/ $\mu\text{l}$  eingestellt. Die DNA-Konzentration wurde durch die PicoGreen-

Methode gemessen. PicoGreen ist ein selektiv an Doppelstrang-DNA bindender Fluoreszenzfarbstoff. Die Intensität der Fluoreszenz ist dabei direkt proportional zur vorhandenen doppelsträngigen DNA. Mit Hilfe einer Standardkurve aus bekannten DNA-Konzentrationen kann so die Konzentration der extrahierten DNA bestimmt werden.

*Tabelle 2.2: Material und Geräte für die DNA-Konzentrationseinstellung*

<b>Material</b>	<b>Hersteller</b>
Human genomic DNA (100 ng/μl)	Firma Clontech
Thermo Fast 96 well plate	Firma ABgene
96 well flat bottom plate, black	Firma Greiner Bio-one
Janus automated workstation	Firma Perkin Elmer
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Firma Invitrogen
Victor <sup>3</sup> 1420 Multilabel Counter	Firma Perkin Elmer
Rechner (PC): Optiplex GX620 Pentium 4 HT	Firma Dell

### **Herstellung der Standard-DNA-Verdünnungsreihe (Eichkurve)**

Zur Erstellung der Standardkurve wird aus humaner genomischer DNA mit der bekannten Konzentration von 100 ng/μl (Firma Clontech) eine Verdünnungsreihe hergestellt. Es wird 1:1 mit Aqua bidest verdünnt; die jeweilige Verdünnung dient als Ausgangssubstanz für die nächst-niedrige Konzentration; es ergibt sich folgende Konzentrationsreihe: 100 ng/μl; 50 ng/μl; 25 ng/μl; 12,5 ng/μl; 6,25 ng/μl; 3,125 ng/μl; 1,5625 ng/μl; 0 ng/μl.

### **Vorverdünnung der DNA-Stammlösung**

Die zu messenden DNA-Lösungen wurden 1:10 mit Wasser verdünnt, da ihre Konzentration ohne Vorverdünnung in der Regel über 100 ng/μl und damit außerhalb der Eichkurve liegt. Dazu wurden auf eine 96 well-Platte je Probe 5 μl DNA-Stammlösung und 45 μl Wasser pipettiert. Die Pipettierungen wurden von einem Roboter (Janus Automated Workstation) ausgeführt.

### **Vorbereitung der Messplatte**

Zur Fehlervermeidung wurden sowohl Standard-DNA als auch Proben-DNA doppelt aufgebracht. Die Pipettierschritte wurden mit dem Roboter ausgeführt. Auf eine Messplatte (96 well flat bottom plate, black) wurden 50 μl H<sub>2</sub>O bidest je Vertiefung eingebracht. Zu diesem hinzu wurden in Spalte 1 und 2 der Platte jeweils 5 μl des DNA-Standards als Verdünnungsreihe pipettiert. Die zu bestimmende vorverdünnte Proben-DNA wurde, mit Plattenposition A3 beginnend, mit einem Volumen von jeweils 5 μl aufgebracht, ebenfalls in Duplikaten. Pro Platte können 40 DNA-Proben gemessen werden.

### **Herstellung des PicoGreen-Gemisches**

Unmittelbar vor der Messung wurde das photosensible PicoGreen unter weitgehender Vermeidung von Lichteinfall mit Aqua bidest 1:156 verdünnt. Von dieser Mischung wurden 145 µl je Vertiefung auf die vorbereitete Platte gegeben. So ergab sich eine Endverdünnung des PicoGreen von 1:200.

### **Messung der DNA-Konzentration**

Die befüllte Messplatte wurde von einem Greifarm in das Fluoreszenzmessgerät (Victor<sup>3</sup> 1420 Multilabel Counter) transportiert. Zur Durchmischung der Lösungen wurde sie für 30 Sekunden in Doppelkreisen geschüttelt. Der DNA-Farbstoff-Komplex wurde dann durch Lichtbestrahlung mit einer Wellenlänge von 485 nm angeregt. Die Emissionsmessung erfolgte bei 535 nm; die Messzeit betrug 0,1 s pro Vertiefung. Die Messergebnisse wurden an einen Rechner weitergeleitet, der die Konzentrationen der DNA-Proben anhand der Fluoreszenzwerte der Eichkurve bestimmte und den Mittelwert der Doppelbestimmungen berechnete.

### **Einstellung der DNA-Konzentration auf 50 ng/µl**

Anhand der ermittelten DNA-Konzentrationswerte wurden vom Rechner diejenigen Volumina an Wasser und DNA-Lösung berechnet, die nötig waren, um die gewünschte Arbeitskonzentration von 50 ng/µl zu erreichen. Die Konzentrationseinstellung wurde automatisch vom Pipettierroboter durchgeführt. Das Endvolumen betrug jeweils 500 µl Arbeitslösung.

## **2.4.3 Genotypisierung**

### **2.4.3.1 Prinzip der Hochdurchsatzgenotypisierung mit dem iPLEX-Verfahren**

Die Genotypisierung wurde mit Hilfe des Sequenom MassARRAY (iPLEX, Firma Sequenom; (Oeth et al. 2005; Gabriel et al. 2009) vorgenommen, welches eine automatisierte Genotypisierung mit hohem Durchsatz bei hoher Sensitivität und Genauigkeit ermöglicht. Bei diesem Verfahren werden die Genotypen des untersuchten Polymorphismus durch die molekularen Massen von allelspezifischen Reaktionsprodukten bestimmt. Das Verfahren ermöglicht sogenannte Multiplex-Reaktionen: Es können bis zu 36 Polymerase-Kettenreaktionen (*polymerase chain reaction*, PCR) in einem einzigen sogenannten Plex gleichzeitig durchgeführt werden. Zu der DNA-Lösung eines Probanden werden für einen 36-Plex 36 Primerpaare gegeben und mit Enzym und Nukleotiden zur Reaktion gebracht. So entstehen 36 Amplifikate in einem Ansatz, ein wichtiger Aspekt der Hochdurchsatzgenotypisierung.

Das iPLEX-Verfahren setzt sich im wesentlichen aus folgenden drei Schritten zusammen: einer konventionellen PCR zur Vervielfältigung des zu untersuchenden Genomabschnitts, der eigent-

lichen Genotypisierung in einer Einzelbasenextensions-PCR – der iPLEX-Reaktion –, bei der für jedes Allel des SNPs ein massenspezifisches Produkt entsteht, und schließlich der Messung der Massen im MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption/ ionization – time of flight*) Massenspektrometer.

#### 2.4.3.2 Der Einzelbasenpolymorphismus rs6465084

Der in dieser Arbeit untersuchte Einzelbasenpolymorphismus (*single nucleotide polymorphism*, SNP) rs6465084 wurde zusammen mit etwa tausend anderen SNPs im Rahmen einer großen Fall-Kontroll-Studie genotypisiert. Er liegt im Intron 2 des GRM3-Gens im Chromosom 7.

Tabelle 2.3: Überblick über Eigenschaften und Lokalisation des Polymorphismus rs6465084.

Gen	SNP ID	flankierende Sequenz	Chromosom 7 Position	Allel	Funktion
GRM3	rs6465084	TTCTCTTTCCAAATTACCATTAAAT[A/G] TGTGCCTTTTTCATGGATTGATATG	86241411	A/G	Intron

#### 2.4.3.3 Multiplex-Assay-Design

Die zur Genotypisierung ausgewählten SNPs wurden mit der Software AssayDesign 3.1 (Firma Sequenom) zu Multiplexen zusammengestellt. Das Programm ermittelt die optimale Plex-Zusammensetzung, so dass die Primerpaare sich nicht gegenseitig stören, und entwirft für jeden SNP ein Primerset aus zwei PCR-Primern und einem Extensionsprimer. Die beiden PCR-Primer haben an ihrem 5'-Ende eine zur Zielsequenz inkompatible Basenfolge, ein sogenanntes *mass tag*, das zum einen die Amplifizierung erleichtert und zum anderen sicherstellt, dass die Primermassen außerhalb des Massenfensters des Spektrometers liegen.

Tabelle 2.4: Verwendete Primer

SNP ID	Primer 1	Primer 2	Fragmentlänge	Extensionsprimer
rs6465084	XCCGCTGCTCTTTCCA TATTG	XTGACACAAAGTTCTC TTTCC	117	tTTCTCTTTCCAAAT TACCATTAAAT

X=ACGTTGGATG (*mass tag*).

#### 2.4.3.4 Die konventionelle PCR

Tabelle 2.5: Material und Geräte für die Genotypisierung und die Messung im Massenspektrometer

Material	Hersteller
Pipettierroboter Microlab MPH 96	Firma Hamilton
96 well plates	Firma ABgene
Thermo Fast 384 well plate	Firma ABgene
Heat sealing foil	Firma ABgene
Thermocycler	Firma Applied Biosystems
Multimek Pipettierroboter	Firma Beckmann
Clean Resin	Firma Sequenom
SpectroCHIPS	Firma Sequenom
MassARRAY Point Nanodispenser	Firma Sequenom
Autoflex MALDI-TOF Massenspektrometer	Firma Bruker Daltonics
TYPERAnalyzer Software	Firma Sequenom

Um genügend Ausgangssubstanz für die iPLEX-Reaktion zu generieren, wird die um den zu untersuchenden SNP liegende Genomregion vervielfältigt. Alle SNPs eines Plexes werden gemeinsam in einer Reaktion prozessiert. Dazu wird die DNA-Arbeitslösung (*template*) mit passenden Oligonukleotidprimern, Puffer, Nukleotiden und thermostabiler DNA-Polymerase (taq-Polymerase) prozessiert. Die DNA-Arbeitslösungen, die in einer Konzentration von 50 ng/μl vorlagen, wurden in 96-well-Platten mit destilliertem steriltfiltriertem Wasser auf eine Endkonzentration von 5 ng/μl verdünnt. Die Arbeit wurde von einem Pipettierroboter (Microlab MPH 96) ausgeführt.

Tabelle 2.6: Reagenzien des Mastermix der Multiplex-PCR.

Reagenz (Herstellerfirma)	Volumen in einer Reaktion (incl. Überhang)	Volumen für 384 Reaktionen (incl. Überhang)
Autoklaviertes destilliertes Wasser (ELGA)	1,850 μl	888 μl
10x PCR-Puffer (Qiagen)	0,625 μl	300 μl
MgCl <sub>2</sub> 25 mM (Qiagen)	0,325 μl	156 μl
Nukleotide: dNTP Mix 25 mM (ABgene)	0,100 μl	48 μl
Primer Mix, je 500 nM (Metabion)	1,000 μl	480 μl
Hotstar taq-Polymerase 5U/μl (Qiagen)	0,100 μl	48 μl
gesamt	4,000 μl	2400 μl

Von dem PCR-Mastermix (siehe Tabelle 2.6) wurden robotergestützt jeweils 3 μl in die Vertiefungen einer 384-well-Platte eingebracht und je 2,5 μl (12,5 ng) der vorbereiteten DNA-Arbeitslösung

dazu pipettiert. Die so entstandenen Reaktionsplatten wurden abzentrifugiert, mit *heat sealing foil* verschlossen und im Thermocycler nach folgendem Schema prozessiert:

1 Zyklus	5 min	95 °C	initiale Denaturierung
45 Zyklen	20 s	95 °C	Denaturierung
	30 s	56 °C	Annealing
	1 min	72 °C	Elongation (= Extension)
1 Zyklus	3 min	72 °C	finale Elongation
Abschluss	unbestimmt	4 °C	

Im ersten Schritt wurde das Gemisch auf 95 °C erhitzt: Die beiden Stränge der doppelsträngigen DNA diffundieren auseinander (Denaturierung). Im ersten Zyklus wurde die Temperatur von 95 °C fünf Minuten lang aufrecht erhalten, um eine vollständige Separierung der Stränge zu gewährleisten. Der zweite Schritt (Annealing) fand bei Abkühlung auf 56 °C statt: Die Forward- und Reverse-Primer lagern sich an die Einzelstränge an. Schritt drei (Elongation) erforderte eine Erhöhung der Temperatur auf 72 °C, das Arbeitsoptimum der taq-Polymerase: Der Zweitstrang wird neu synthetisiert, indem die Polymerase Nukleotide an die Primer anfügt. Diese Schritte wurden 45 mal wiederholt. Im letzten Zyklus wurde die Elongationsphase auf drei Minuten verlängert. Zum Abschluss wurde das PCR-Produkt auf 4 °C abgekühlt und bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt.

### Dephosphorylierung mit Shrimp Alkalischer Phosphatase

Bei der PCR werden nicht alle zugefügten Nukleotide eingebaut. Die nicht inkorporierten Nukleotide würden die Folgereaktion stören und werden deshalb durch Zugabe von Shrimp Alkalischer Phosphatase (SAP) enzymatisch inaktiviert. Die Phosphatase dephosphoryliert die freien Nukleotide. Hierzu wurden je 2 µl SAP-Mastermix (siehe Tabelle 2.7) zu jedem der PCR-Reaktionsprodukte gegeben, gemischt und abzentrifugiert und im Thermocycler bei 37 °C 40 Minuten lang inkubiert. Die Phosphatase wurde dann bei 85 °C für zehn Minuten irreversibel inaktiviert. Der Ansatz wurde anschließend auf 4 °C abgekühlt.

Tabelle 2.7: Zusammensetzung des SAP-Mastermix

Reagenz	Volumen in einer Reaktion	Volumen für 384 Reaktionen (incl. Überhang)
Wasser	1,530 µl	734,4 µl
10 x SAP-Puffer	0,170 µl	81,6 µl
SAP-Enzym	0,300 µl	144,0 µl
gesamt	2,000 µl	960,0 µl

### 2.4.3.5 Die Einzelbasenextensionsreaktion (iPLEX-Reaktion)

Die iPLEX-Reaktion erzeugt für jedes Allel eines SNPs ein spezifisches Extensionsprodukt. Die Extensionsprimer sind so gebaut, dass sie sich direkt vor dem zu untersuchenden SNP anlagern. In der Reaktion werden sie um genau eine Base verlängert, die komplementär zu der jeweils vorliegenden Basenvariante des SNP ist. Statt der normalen Desoxynukleotide (dNTP) werden Didesoxynukleotide (ddNTP) verwendet. Diesen fehlt am 3'-Ende ein Sauerstoffatom, so dass sie von der Polymerase zwar korrekt eingebaut werden können, die Elongation danach jedoch abbricht, da keine weitere Phosphodiesterbindung mehr eingegangen werden kann. Die verwendeten ddNTP haben zur besseren Unterscheidbarkeit der Massen jeweils spezifische funktionelle Gruppen angehängt. Die Polymerase ist so mutiert, dass sie Didesoxynukleotide an die Primer anhängen kann.

Auch die iPLEX-Reaktion ist eine Multiplex-Reaktion; in einem 36-Plex werden 36 verschiedene Extensionsprimer zu jedem Reaktionsansatz gegeben. Diese sind in ihren Konzentrationen so aufeinander abgestimmt, dass ihre Signalintensität im Spektrum später möglichst gleich hoch ist. Für die Reaktion wurde ein sogenannter iPLEX-Mix erstellt (Tabelle 2.8). Je 2 µl dieses Mixes wurden automatisiert (Multimek Pipettierroboter) zu den aufgereinigten PCR-Produkten gegeben.

Tabelle 2.8: Zusammensetzung des iPLEX-Mix

Reagenz (Herstellerfirma)	Volumen in einer Reaktion	Volumen für 384 Reaktionen (incl. Überhang)
autoklaviertes Wasser	0,755 µl	362,40 µl
iPLEX-Puffer (Sequenom)	0,200 µl	96,00 µl
iPLEX Termination Mix (Sequenom)	0,200 µl	96,00 µl
Primer-Mix, 7 µM bis 14 µM (Metabion)	0,804 µl	385,92 µl
iPLEX-Enzym (Sequenom)	0,041 µl	19,68 µl
gesamt	2,000 µl	960,00 µl

Die Platten wurden im Thermocycler nach folgendem Schema prozessiert:

1 Zyklus	30 s	94 °C	initiale Denaturierung
40 Zyklen	{ 5 Zyklen	5 s	94 °C Denaturierung
		5 s	52 °C Annealing
		5 s	80 °C Extension
1 Zyklus	3 min	72 °C	finale Extension
Abschluss	unbestimmt	4 °C	

Da vor allem Natrium- und Kaliumionen die spätere Messung im Massenspektrometer stören würden, wurden die Proben mit dem Ionenaustauscher Clean Resin entsalzt. Dazu wurden zu jeder Reaktion 6 mg Clean Resin und 25 µl Wasser gegeben, die Platten verschlossen, 10 Minuten in einem Rotor vermischt und dann 5 Minuten bei 2500 rpm zentrifugiert.

#### **2.4.3.6 Messung der Extensionprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer**

Die massenspektrometrische Analyse wurde mit Hilfe des MassARRAY MALDI-TOF Systems (Firma Sequenom) durchgeführt. Dazu wurden die Analyte in eine Matrix aus 2-Hydroxypicolinsäure eingebracht, die das Auskristallisieren der DNA verhindert. Probenträger waren Siliziumchips (SpectroCHIPS), auf die bereits 384 Matrixpunkte und 8 Kalibrandenpunkte aufpräpariert sind. Die Proben wurden mit dem MassARRAY Point Nanodispenser von der 384-well-Platte auf den Chip übertragen. Zur Kalibrierung wurde eine Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse aufgetragen. Die Proben wurden dann in das Autoflex MALDI-TOF Massenspektrometer eingeschleust. Die Matrix wurde mit einem gepulsten Laser beschossen, wodurch das Probenmaterial verdampft und zugleich ionisiert. Die Ionen werden im Vakuum beschleunigt und die Zeit gemessen, die die Ionen brauchen, um einen genau definierten Flugkanal zwischen Beschleunigungselektrode und Detektor zu durchfliegen. Ionen mit hohem Masse/Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) wandern langsamer durch das Flugrohr als Ionen mit niedrigem  $m/z$ -Verhältnis. So kann aufgrund der Flugdauer auf die molekulare Masse des Ions rückgeschlossen werden. Jede gemessene Masse erzeugt im Massenspektrum einen Peak.

Für jeden biallelischen SNP sind zwei diskrete Massen möglich. Aus den bekannten Massen der Extensionsprimer und der Didesoxynukleotide berechnet die Analysesoftware des Spektrometers, welches Allel vorliegt. Ist der Proband homozygot für A, zeigt sich ein großer Peak mit der für A berechneten Masse, ist er homozygot für G, ein entsprechender Peak bei der für G berechneten Masse; ist er heterozygot, zeigen sich zwei kleinere Peaks bei A und bei G. Die Analyse der Spektren und Zuordnung zu spezifischen Genotypen erfolgte mit der TYPERAnalyzer Software. Einen schematischen Überblick über das Verfahren gibt Abbildung 2.1.



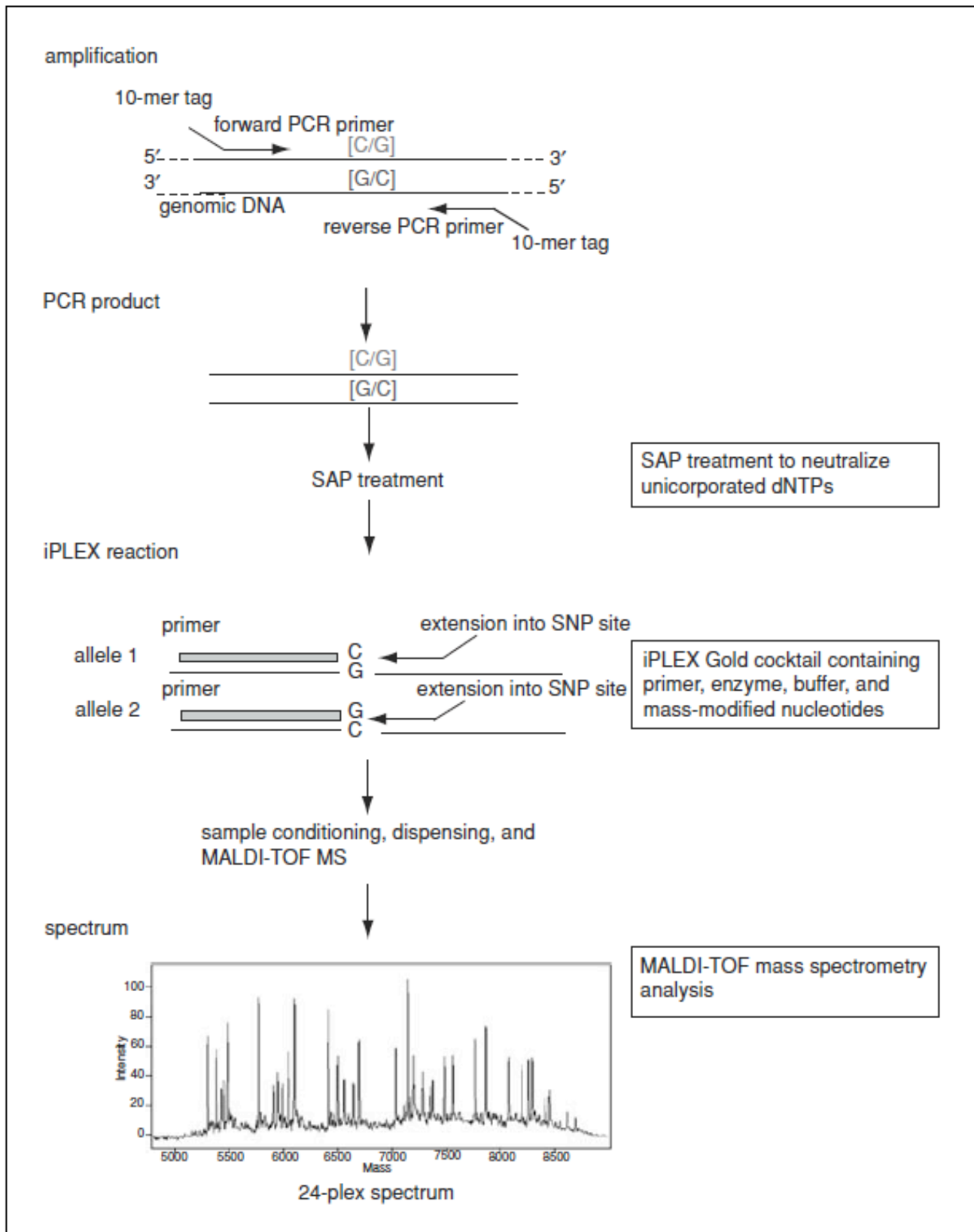


Abbildung 2.1: iPLEX-Reaktion. Schematische Darstellung der PCR und iPLEX-Reaktion eines C/G SNP. Das Spektrum enthält alle 24 Reaktionen eines 24-Plex.

Quelle: Gabriel et al. 2009.

## 2.5 Statistische Auswertung

Nach einer qualitativen Kontrolle wurden die für valide befundenen Genotypen statistisch analysiert. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht der Verteilung der Genotypen des SNP rs6465084 wurde überprüft. Der Einfluss des Genotyps beziehungsweise des Allels (unabhängige Variable) auf Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ (abhängige Variable) wurde in univariaten Varianzanalysen (*analysis of variance*, ANOVA) mit den Kovariaten Geschlecht und Bildung berechnet. Mit multivariaten Varianzanalysen (*multivariate analysis of variance*, MANOVA) wurden die Genotypen und Allele bezüglich ihres Effekts auf die elf Untertests des HaWIE-R (abhängige Variablen) verglichen. Alter, Geschlecht und Bildung gingen als Kovariate ein. Da bei den HaWIE-Untertests mit Rohwerten gerechnet wurde, wurde das Alter als Kovariate mit einbezogen, was bei den IQ-Werten nicht nötig war, da sie bereits alterskorrigiert vorlagen.

Für die statistische Auswertung wurde die Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 14.0, Chicago 2005) verwendet. Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  festgelegt;  $p \leq 0,1$  wurde als Trend zur Signifikanz gewertet.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Beschreibung der Stichprobe

An der Studie nahmen 1202 Personen im Alter von 19 bis 79 Jahren (Mittelwert 45,37 Jahre, Standardabweichung 15,65) teil. Frauen waren etwas häufiger vertreten (54,16%) als Männer (45,84%). Geschlecht und Bildungsgrad der Probanden zeigt Tabelle 3.1.

*Tabelle 3.1: Studienteilnehmer nach Geschlecht und Bildung*

		Anzahl	Prozent
<b>Geschlecht</b>	männlich	551	45,84%
	weiblich	651	54,16%
	gesamt	1202	100,00%
<b>Bildung</b>	Hauptschulabschluss	274	22,80%
	Realschul- oder vergleichbarer Abschluss	401	33,40%
	(Fach)Hochschulreife	527	43,80%
	gesamt	1202	100,00%

Von den drei möglichen Genotypen (AA, AG und GG) war AA mit 56,41% der häufigste innerhalb der untersuchten Population, es folgten AG mit 37,35% und GG mit 6,24%. Die Genotypenverteilung lag im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ( $F=0,017$ ;  $p=0,95$ ;  $df=1$ ). Das Allel A war mit etwa 75% deutlich häufiger vertreten als das Allel G (Tabelle 3.2).

*Tabelle 3.2: Verteilung der Genotypen und Allele des Polymorphismus rs6465084*

		Anzahl	Prozent
<b>Genotyp</b>	AA	678	56,41%
	AG	449	37,35%
	GG	75	6,24%
	gesamt	1202	100,00%
<b>Allel</b>	A	1805	75,08%
	G	599	24,92%
	gesamt	2404	100,00%

## **3.2 Assoziation der Genotypen des Polymorphismus rs6465084 mit den Ergebnissen des Intelligenztests**

### **3.2.1 Vergleich der Genotypen AA, AG und GG**

Die drei möglichen genotypischen Ausprägungen des SNP wurden mit dem Verbal-, Handlungs- und Gesamt-Intelligenzquotienten sowie den Rohwertergebnissen der einzelnen Untertests des HaWIE-R assoziiert. Es gab keinen Einfluss des Genotyps auf die Ergebnisse des Intelligenztests.

Tabelle 3.3 (Seite 77) zeigt im oberen Teil den Verbal-IQ, den Handlungs-IQ und den Gesamt-IQ des HaWIE-R für die drei möglichen Genotypen. Es werden die Mittelwerte der Intelligenzquotienten sowie die Standardabweichung (SD) angegeben. Die Varianzanalyse ergab keine signifikante statistische Assoziation zwischen Genotyp und Intelligenz: Die Leistungen der verschiedenen Genotyp-Träger unterschieden sich nicht in Bezug auf Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ.

Im unteren Teil der Tabelle werden die Rohwertergebnisse der elf HaWIE-Untertests für die drei Genotypen angegeben. Die multivariate Varianzanalyse ergab keinen Haupteffekt des Genotyps auf die Leistungen in den Untertests ( $F=0,751$ ;  $df=22/2370$ ;  $p=0,788$ ).

**Tabelle 3.3: Ergebnisse des HaWIE-R und seiner Untertests für die Genotypen AA, AG und GG des Polymorphismus rs6465084.**

		Genotyp			F gesamt (df)    p gesamt	
		AA n=678	AG n=449	GG n=75		
		Mittelwert (SD)	Mittelwert (SD)	Mittelwert (SD)		
<b>HAWIE-R</b>	Verbal-IQ	111,88 (14,37)	112,09 (13,67)	116,41 (13,96)	1,468 (2/1195)	0,231
	Handlungs-IQ	111,87 (14,71)	111,80 (13,96)	113,92 (16,47)	0,182 (2/1195)	0,834
	Gesamt-IQ	113,94 (14,89)	114,17 (14,57)	117,79 (15,41)	0,798 (2/1195)	0,451
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>	Allgemeines Wissen	16,94 (3,99)	17,25 (3,77)	18,01 (3,29)	2,044 (2/1194)	0,130
	Zahlen-nachsprechen	14,65 (3,92)	14,66 (4,09)	15,03 (3,86)	0,159 (2/1194)	0,853
	Wortschatztest	22,59 (5,20)	22,92 (4,96)	24,17 (4,73)	1,623 (2/1194)	0,198
	Rechnerisches Denken	13,83 (3,23)	13,63 (3,50)	14,67 (3,12)	1,628 (2/1194)	0,197
	Allgemeines Verständnis	21,43 (3,27)	21,63 (3,06)	22,25 (2,81)	1,470 (2/1194)	0,230
	Gemeinsamkeiten finden	26,38 (4,16)	26,42 (3,00)	27,55 (2,82)	1,930 (2/1194)	0,146
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>	Bilderergänzen	13,49 (2,74)	13,56 (2,72)	13,53 (2,96)	0,083 (2/1194)	0,920
	Bilderordnen	27,76 (11,84)	28,40 (11,56)	29,11 (12,25)	0,284 (2/1194)	0,753
	Mosaiktest	32,14 (9,72)	33,08 (9,53)	35,27 (10,66)	0,966 (2/1194)	0,381
	Figurenlegen	30,95 (6,07)	30,97 (5,91)	31,43 (5,64)	0,280 (2/1194)	0,755
	Zahlen-Symbol-Test	55,17 (13,29)	55,39 (13,48)	54,84 (13,77)	0,197 (2/1194)	0,822

### 3.2.2 Vergleich der G-Homozygoten mit A-Allelträgern

Anschließend wurden alle Träger des A-Allels (Genotypen AA und AG) mit den homozygoten GG-Trägern verglichen (Tabelle 3.4). 1127 Personen (93,76% der Probanden) tragen mindestens ein Allel A ( $n=678+449=1127$ ); 75 Personen (6,24%) sind homozygot für G. Bei dieser Betrachtung zeigte sich eine signifikante Assoziation zu dem Untertest *Gemeinsamkeiten finden* des Verbalteils. G-Homozygote hatten signifikant bessere Leistungen als A-Allel-Träger. Dies wirkte sich auf den

Verbal-IQ als Trend zur Signifikanz aus ( $F=2,859$ ;  $df=1/1197$ ;  $p=0,091$ ): A-Allel-Träger erzielten nur 111,96 Punkte, während G-Homozygote 116,41 Punkte erreichten (Abbildung 3.1, Seite 79). Bei Handlungs- und Gesamt-IQ unterschieden sich die Leistungen der beiden Gruppen nicht signifikant. Auch für die anderen Untertests ergab sich keine statistisch signifikante Assoziation. Bei den Untertests ergab sich kein Haupteffekt ( $F=0,706$ ;  $df=11/1189$ ;  $p=0,734$ ).

*Tabelle 3.4: Ergebnisse des HaWIE-R und seiner Untertests für die A-Allelträger (Genotypen AA und AG) im Vergleich mit den Homozygoten für G (Genotyp GG) des Polymorphismus rs6465084.*

		Genotyp			
		AA+AG n=1127	GG n=75		
		Mittelwert (SD)	Mittelwert (SD)	F gesamt (df)	p gesamt
<b>HAWIE-R</b>	Verbal-IQ	111,96 (14,09)	116,41 (13,96)	2,859 (1/1197)	<b>0,091</b>
	Handlungs-IQ	111,84 (14,41)	113,92 (16,47)	0,323 (1/1197)	0,570
	Gesamt-IQ	114,04 (14,76)	117,79 (15,41)	1,549 (1/1197)	0,214
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>	Allgemeines Wissen	17,07 (3,91)	18,01 (3,29)	0,941 (1/1196)	0,332
	Zahlen- nachsprechen	14,66 (3,99)	15,03 (3,86)	0,184 (1/1196)	0,668
	Wortschatztest	22,72 (5,11)	24,17 (4,73)	1,870 (1/1196)	0,172
	Rechnerisches Denken	13,75 (3,34)	14,67 (3,12)	2,478 (1/1196)	0,116
	Allgemeines Verständnis	21,51 (3,19)	22,25 (2,81)	1,810 (1/1196)	0,179
	Gemeinsamkeiten finden	26,39 (4,09)	27,55 (2,82)	3,867 (1/1196)	<b>0,049</b>
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>	Bilderergänzen	13,52 (2,73)	13,53 (2,96)	0,171 (1/1196)	0,679
	Bilderordnen	28,01 (11,73)	29,11 (12,25)	0,412 (1/1196)	0,521
	Mosaiktest	32,79 (9,52)	34,28 (10,01)	1,498 (1/1196)	0,221
	Figurenlegen	30,96 (6,00)	31,43 (5,64)	0,334 (1/1196)	0,564
	Zahlen-Symbol-Test	55,26 (13,36)	54,84 (13,77)	0,002	0,965

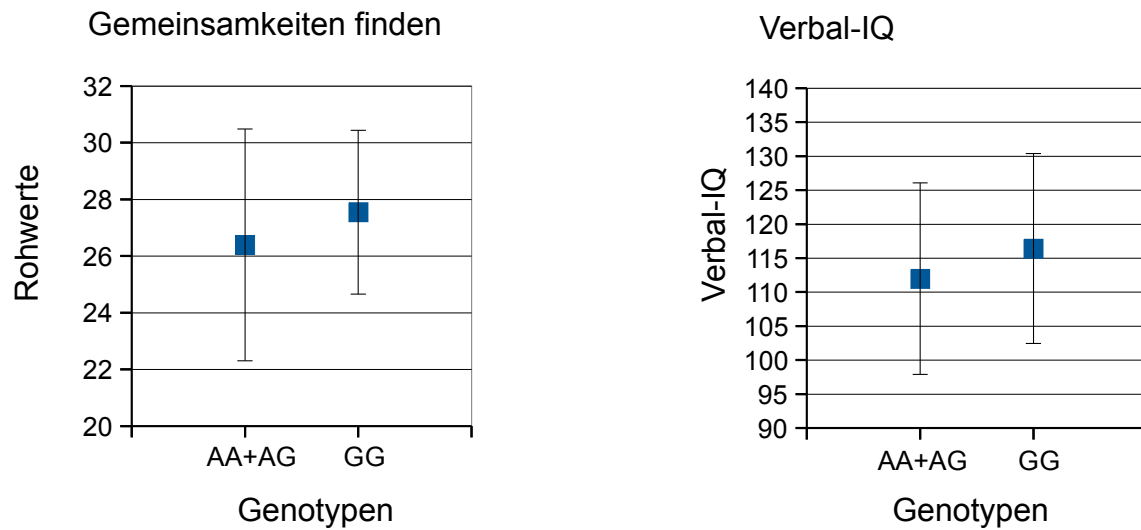


Abbildung 3.1: Assoziation der A-Allelträger (Genotypen AA + AG) und des Genotyps GG zu den Ergebnissen im HaWIE-R-Untertest Gemeinsamkeiten finden und zum Verbal-IQ. G-Homozygote schneiden bei dem Untertest signifikant besser und beim Verbal-IQ tendenziell besser ab als A-Allelträger. Dargestellt sind jeweils Mittelwerte und Standardabweichung.

### 3.2.3 Vergleich der A-Homozygoten mit den G-Allelträgern

Weiterhin wurden die G-Allelträger (AG und GG) mit den Homozygoten für das A-Allel verglichen (Tabelle 3.5, Seite 80). 678 Personen (56,41%) sind homozygot für AA; 524 Probanden, das sind 43,59% der Stichprobe, haben mindestens ein G-Allel ( $n=449+75=524$ ).

Beim Untertest *Allgemeines Wissen* zeigte sich ein tendenziell signifikanter Zusammenhang ( $p=0,60$ ). Die G-Allel-Träger hatten bessere Leistungen als die AA-homozygoten Probanden (Abbildung 3.2, Seite 81). Es konnte keine Assoziation des Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ mit dem Genotyp festgestellt werden, und es gab auch keinen Haupteffekt auf die Untertests ( $F=0,850$ ;  $df=11/1186$ ;  $p=0,590$ ).

*Tabelle 3.5: Ergebnisse des HAWIE-R und seiner Untertests für den Genotyp AA im Vergleich mit G-Allelträgern (AG + GG) des Polymorphismus rs6465084.*

		Genotyp			
		AA n=678	AG + GG n=524		
		Mittelwert (SD)	Mittelwert (SD)	F gesamt (df)	p gesamt
<b>HAWIE-R</b>	Verbal-IQ	111,88 (14,37)	112,71 (13,78)	0,600 (1/1197)	0,439
	Handlungs-IQ	111,87 (14,71)	112,10 (14,35)	0,005 (1/1197)	0,942
	Gesamt-IQ	113,94 (14,89)	114,69 (14,73)	0,283 (1/1197)	0,595
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>	Allgemeines Wissen	16,94 (3,99)	17,36 (3,72)	3,556 (1/1196)	<b>0,060</b>
	Zahlen- nachsprechen	14,65 (3,92)	14,72 (4,06)	0,043 (1/1196)	0,835
	Wortschatztest	22,59 (5,20)	23,10 (4,94)	2,488 (1/1196)	0,115
	Rechnerisches Denken	13,83 (3,23)	13,77 (3,47)	0,205 (1/1196)	0,651
	Allgemeines Verständnis	21,43 (3,27)	21,72 (3,03)	1,944 (1/1196)	0,163
	Gemeinsamkeiten finden	26,38 (4,16)	26,58 (3,87)	0,427 (1/1196)	0,513
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>	Bilderergänzen	13,49 (2,74)	13,56 (2,75)	0,028 (1/1196)	0,868
	Bilderordnen	27,76 (11,84)	28,50 (11,65)	0,271 (1/1196)	0,603
	Mosaiktest	32,54 (9,63)	33,32 (9,43)	0,924 (1/1196)	0,337
	Figurenlegen	30,95 (6,07)	31,03 (5,87)	0,088 (1/1196)	0,767
	Zahlen-Symbol-Test	55,17 (13,29)	55,31 (13,51)	0,435 (1/1196)	0,509



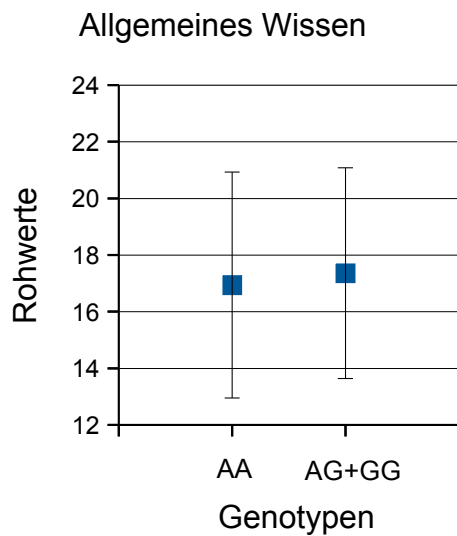


Abbildung 3.2: Assoziation des Genotyps AA und der homo- und heterozygoten G-Allelträger (Genotypen AG + GG) zu den Ergebnissen im HAWIE-R-Untertest Allgemeines Wissen. G-Allelträger schneiden tendenziell besser ab als A-Homozygote. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichung.

### 3.3 Assoziation der Allele des Polymorphismus rs6465084 mit den Ergebnissen des Intelligenztests

Schließlich wurde noch die Assoziation der Allele A und G des Polymorphismus rs6465084 zu kognitiven Leistungen im HaWIE-R untersucht. Tabelle 3.6 (Seite 82) fasst die Ergebnisse zusammen. Bei den Untertests *Allgemeines Wissen* ( $p=0,070$ ), *Wortschatztest* ( $p=0,061$ ) und *Allgemeines Verständnis* ( $p=0,100$ ) war eine tendenziell signifikante Assoziation zu den Allelen feststellbar. Personen mit dem G-Allel erbrachten jeweils bessere Leistungen als Probanden mit dem A-Allel. Die graphische Aufbereitung dieser Zusammenhänge findet sich in den Abbildungen 3.4, 3.5 und 3.6 (Seite 83). Die Verteilung der Allele war nicht mit den Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ-Werten assoziiert. Es war kein Haupteffekt festzustellen ( $F=0,864$ ;  $df=11/2388$ ;  $p=0,576$ ).

*Tabelle 3.6: Ergebnisse des HaWIE-R und seiner Untertests für die Allele A und G des Polymorphismus rs6465084.*

		Allel			
		A n=1805	G n=599		
		Mittelwert (SD)	Mittelwert (SD)	F gesamt (df)	p gesamt
<b>HAWIE-R</b>	Verbal-IQ	111,93 (14,19)	113,18 (13,85)	1,678 (1/2399)	0,195
	Handlungs-IQ	111,85 (14,52)	112,33 (14,63)	0,012 (1/2399)	0,914
	Gesamt-IQ	114,00 (14,80)	115,08 (14,84)	0,768 (1/2399)	0,381
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>	Allgemeines Wissen	17,02 (3,94)	17,44 (3,67)	3,281 (1/2398)	<b>0,070</b>
	Zahlen- nachsprechen	14,66 (3,96)	14,75 (4,03)	0,000 (1/2398)	0,994
	Wortschatztest	22,67 (5,14)	23,23 (4,92)	3,519 (1/2398)	<b>0,061</b>
	Rechnerisches Denken	13,78 (3,30)	13,89 (3,44)	0,034 (1/2398)	0,854
	Allgemeines Verständnis	21,48 (3,22)	21,79 (3,01)	2,702 (1/2398)	<b>0,100</b>
	Gemeinsamkeiten finden	26,39 (4,11)	26,70 (3,77)	1,576 (1/2398)	0,209
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>	Bilderergänzen	13,51 (2,74)	13,55 (2,78)	0,132 (1/2398)	0,716
	Bilderordnen	27,92 (11,77)	28,58 (11,72)	0,394 (1/2398)	0,531
	Mosaiktest	32,69 (9,56)	33,44 (9,50)	1,519 (1/2398)	0,218
	Figurenlegen	30,96 (6,03)	31,08 (5,84)	0,001 (1/2398)	0,981
	Zahlen-Symbol-Test	55,23 (13,33)	55,26 (13,53)	0,365 (1/2398)	0,546

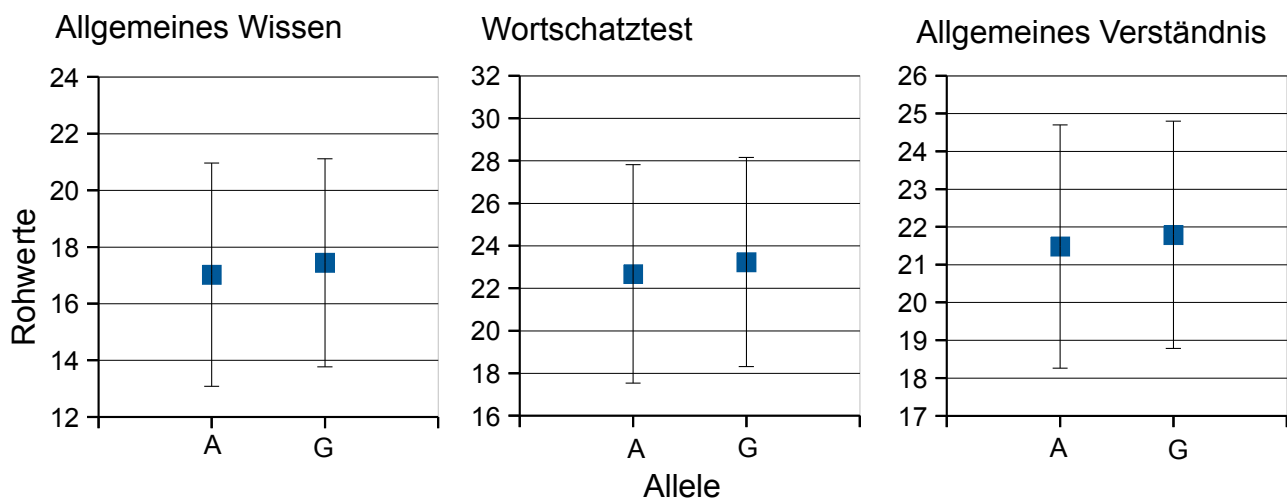


Abbildung 3.3: Assoziation der Allele mit den HaWIE-Untertests Allgemeines Wissen, Wortschatztest und Allgemeines Verständnis. G-Allele zeigen tendenziell höhere Rohpunktwerte als A-Allele. Dargestellt sind jeweils Mittelwerte und Standardabweichung.

### 3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Assoziation der beiden Allele und drei Genotypen des Einzelbasenpolymorphismus rs6465084 zu den Leistungen gesunder Testpersonen im HaWIE-R ergab im Überblick folgende Ergebnisse (Tabelle 3.7):

Tabelle 3.7: Signifikante und tendenziell signifikante Assoziationen der Allele und Genotypen des SNP rs6465084 mit Ergebnissen im HaWIE-R.

HaWIE-Untertest	Assoziierte Allele und Genotypen	p-Wert
Verbal-IQ	Genotyp GG tendenziell assoziiert mit besserer Leistung als A-Allel-Träger	0,091
Verbal-Untertest <i>Allgemeines Wissen</i>	Allel G tendenziell assoziiert mit besserer Leistung als Allel A	0,070
	G-Allel-Träger tendenziell assoziiert mit besserer Leistung als Genotyp AA	0,060
Verbal-Untertest <i>Wortschatztest</i>	Allel G tendenziell assoziiert mit besserer Leistung als Allel A	0,061
Verbal-Untertest <i>Allgemeines Verständnis</i>	Allel G tendenziell assoziiert mit besserer Leistung als Allel A	0,100
Verbal-Untertest <i>Gemeinsamkeiten finden</i>	Genotyp GG signifikant assoziiert mit besserer Leistung als A-Allel-Träger	<b>0,049</b>

Das G-Allel scheint mit besseren verbalen Fähigkeiten verbunden zu sein als das A-Allel, allerdings ist der Zusammenhang nur sehr schwach ausgeprägt. Beim Vergleich der drei Genotypen AA, AG und GG lässt sich keine statistische Assoziation zu den Ergebnissen des Intelligenztests einschließlich der Untertests nachweisen. Erst beim Allelträger-Vergleich (A-Allelträger gegenüber Genotyp GG) zeigt sich eine statistisch signifikante Assoziation bei einem der verbalen Untertests des HaWIE-R (*Gemeinsamkeiten finden*,  $p=0,049$ ). Der Einfluss auf den verbalen Intelligenzquotienten bei dieser Betrachtung ist von tendenzieller Signifikanz ( $p=0,091$ ); ein Einfluss auf den Gesamt-Intelligenzquotienten lässt sich nicht nachweisen. Beim Vergleich der G-Allelträger mit dem Genotyp AA zeigt sich bei dem Untertest *Allgemeines Wissen* ein Trend zur Signifikanz ( $p=0,060$ ): die G-Allel-Träger schneiden besser ab als die Homozygoten für A. Der Vergleich der beiden Allele ergibt für drei der Verbal-Untertests (*Allgemeines Wissen* mit  $p=0,070$ , *Wortschatztest* mit  $p=0,061$  und *Allgemeines Verständnis* mit  $p=0,100$ ) einen Trend zur Signifikanz, aber keine statistische Assoziation mit dem Verbal-IQ oder dem Gesamt-IQ.

## 4 Diskussion

### 4.1 Inhaltliche Diskussion

#### 4.1.1 Zusammenfassung der Fragestellung und der Ergebnisse

In dieser Studie wurde der Einzelbasenpolymorphismus rs6465084 im Gen GRM3 auf seinen Einfluss auf die psychometrische Intelligenz hin untersucht. GRM3 kodiert für den metabotropen Glutamatrezeptor 3, der die Glutamattransmission beeinflusst. Es konnte eine schwach signifikante Assoziation des Genotyps mit sprachlich-logischen Fähigkeiten gezeigt werden. Damit können Ergebnisse einiger früherer Studien, die diesen SNP mit der Kognition in Verbindung brachten, bestätigt werden.

Messinstrument für die Intelligenz war der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene. Die einzelnen Ergebnisse dieses Tests (Gesamt-Intelligenzquotient, Verbal-IQ und Handlungs-IQ sowie die Rohwerte der einzelnen Subtests) wurden jeweils nach Genotypen, nach Homozygoten versus Allelträgern und nach Allelen verglichen. Insgesamt waren das G-Allel und der Genotyp GG mit besserer kognitiver Leistung verbunden.

Der HaWIE-R-Subtest *Gemeinsamkeiten finden* war in der Homozygote-versus-Allelträger-Betrachtung signifikant assoziiert: GG-Homozygote schnitten bei diesem Test besser ab als A-Allel-Träger ( $p=0,049$ , siehe Tabelle 3.7); dies wirkte sich in dieser Betrachtung auch auf den Verbal-IQ mit einem Trend zur Signifikanz aus ( $p=0,091$ ). Der Untertest *Gemeinsamkeiten finden* testet sprachliche Fähigkeiten, logisches Denken und die Fähigkeit zu Konzeptbildung und Abstraktion. Beim Allelvergleich schnitt das G-Allel in allen Untertests etwas besser ab als das A-Allel und erreichte bei drei der elf Untertests einen p-Wert zwischen 0,05 und 0,1, der als Trend zur Signifikanz gewertet wurde. Diese drei Subtests (*Allgemeines Wissen*, *Wortschatztest*, *Allgemeines Verständnis*) erfassen die allgemeine Wissensbreite und vor allem das verbale Wissensniveau. Der Einfluss des SNPs rs6465084 scheint sich nach den hier vorliegenden Ergebnissen also vor allem auf solche kognitiven Phänotypen zu erstrecken, die mit sprachlichen Fähigkeiten, Wortschatz und der Fähigkeit zur Abstraktion im verbalen Bereich einhergehen. Auch auf der Ebene des Gesamt-Intelligenzquotienten  $g$  erbrachten der Genotyp GG beziehungsweise das Allel G jeweils bessere Ergebnisse, die aber nicht statistisch signifikant waren.

#### 4.1.2 Bedeutung der Ergebnisse im Lichte bisheriger Forschungen

Der Einfluss des untersuchten Polymorphismus rs6465084 auf die psychometrische Intelligenz und ihre durch die Untertests erfassten Gruppenfaktoren ist in der vorliegenden Studie zwar messbar vorhanden, aber nur sehr klein. Dies ist ein in der Verhaltensgenetik allgemein beobachtetes Phänomen. Polygenetische Merkmale beruhen auf dem Zusammenwirken vieler verschiedener neuronaler Signalwege, welche durch die kombinierten Effekte vielfältiger genetischer und anderer Einflüsse gesteuert werden. Daher ist es unwahrscheinlich, dass einzelne Allele einen wesentlichen Beitrag zur phänotypischen Varianz leisten, selbst wenn die Heritabilität hoch ist. Die bisherige Forschung (Überblick z. B. bei: Butcher et al. 2008; Congdon et al. 2010; Docherty et al. 2010) legt nahe, dass einzelne mit der Kognition assoziierte Polymorphismen nur einen sehr kleinen Anteil der Varianz von  $g$  erklären. Kleine statistische Beiträge zahlreicher häufiger Varianten zur Variabilität des Phänotyps scheinen eher die Regel als die Ausnahme zu sein. Die biologische Plausibilität und die hier gezeigten statistischen Assoziationen zu kognitiven Phänotypen legen nahe, dass rs6465084 zu den beitragenden Polymorphismen gehört.

Damit bestätigt die vorliegende Studie prinzipiell die in früheren Arbeiten berichtete Assoziation des Polymorphismus rs6465084 zur Kognition. rs6465084 ist der am häufigsten untersuchte SNP in GRM3 und wurde mit kognitiven Fähigkeiten, Schizophrenie, bipolarer Störung und Depression in Verbindung gebracht. Es gibt jedoch auch eine ganze Reihe von Studien, die keine Assoziationen nachweisen konnten.

Daher ist die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, dass der Polymorphismus rs6465084 keinen Einfluss auf die kognitiven Funktionen hat und dass es sich bei den statistischen Assoziationen der hier vorliegenden Studie um falsch-positive Ergebnisse handelt. In Simulationen lieferten Kandidatengen-Studien mit einem  $\alpha \leq 0,05$  mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit falsch-positive Resultate (Sullivan 2007).

##### 4.1.2.1 Einfluss des SNP rs6465084 auf Lernen und Gedächtnis

Die meisten Studien zur Assoziation von GRM3 zu kognitiven Phänotypen kommen aus der Arbeitsgruppe um D. Weinberger (Egan et al. 2004; Marenco et al. 2006; Nicodemus et al. 2006; Tan et al. 2007; Nicodemus et al. 2008) und wurden an schizophrenen Patienten und Kontrollprobanden des amerikanischen National Institute of Mental Health (NIMH) durchgeführt. Diese Forschergruppe assoziierte das Gen nicht nur mit der Kognition bei Gesunden und Patienten, sondern führte auch mehrere Untersuchungen durch, um Erkenntnisse über die neurophysiologischen Mechanismen zu bekommen, durch die GRM3 auf die Kognition einwirkt und das Risiko für psychiatrische Krankheiten transportiert.

In der umfassenden Arbeit von Egan und Kollegen (2004) war der Genotyp GG von rs6465084 sowohl bei Patienten wie bei Kontrollpersonen mit besseren Ergebnissen beim Wortlistenlernen (als Test für das episodische Gedächtnis) und bei der Wortflüssigkeit verbunden. Diese Studie befasste sich mit dem Einfluss von GRM3 auf die Genetik und Pathophysiologie der Schizophrenie und konnte eine Assoziation des A-Allels von rs6465084 mit dem Risiko für Schizophrenie nachweisen. Kognitive Fähigkeiten stellen wichtige intermediäre Phänotypen der Schizophrenie dar und wurden daher in der Egan-Studie an Patienten und Kontrollpersonen untersucht. Das Wortlistenlernen wurde durch den *California-Verbal learning*-Test, bei dem eine Liste von 16 Wörtern gelernt und fünf Mal wiedergegeben werden muss, getestet; für die Wortflüssigkeit mussten die Probanden möglichst viele Wörter mit dem gleichen Anfangsbuchstaben innerhalb einer Minute aufzählen. Daneben wurde eine ganze Reihe von anderen Phänotypen der Schizophrenie untersucht, zu denen jedoch keine Assoziation hergestellt werden konnte. Die genaue Auflistung der getesteten Phänotypen findet sich in Tabelle 1.5 (Seite 51).

Der Einfluss des SNPs rs6465084 erstreckte sich in der Egan-Studie nur auf wenige der untersuchten kognitiven Phänotypen, und zwar auf solche, die mit sprachlichen Fähigkeiten und besonders mit Wortschatz zu tun haben. Diese Ergebnisse werden durch die hier vorgelegte Untersuchung bestätigt, sowohl was die Richtung der Assoziation betrifft (mit besseren Testwerten für das G-Allel und den Genotyp GG) als auch bezüglich der Assoziation zu verbalen Leistungen.

Allerdings gibt es auch Studien mit negativen Ergebnissen (Marenco et al. 2006; Mössner et al. 2008; Schwab et al. 2008; siehe auch Tabellen 1.4 und 1.5, S. 49f.), so dass die Belege für die Assoziation zu diesen sprachlichen Phänotypen als uneinheitlich bezeichnet werden müssen. Die Assoziation zur Wortflüssigkeit konnte von der NIMH-Arbeitsgruppe an einer weiteren Gruppe von gesunden Probanden nicht mehr nachgewiesen werden (Marenco et al. 2006). Hier war die Stichprobengröße mit 54 Probanden allerdings zu klein, um geringe Effekte zu erfassen. Auch die Studie von Mössner et al. (2008) stellte bei gesunden Probanden keinen signifikanten Einfluss von rs6465084 auf verschiedene kognitive Phänotypen fest; die erwartete Assoziation zur Wortflüssigkeit konnte nicht repliziert werden. Für das Wortlistenlernen ergab sich ein Trend zur Signifikanz ( $p=0,084$ ). Mössner und Kollegen konnten jedoch den von Egan gezeigten Einfluss des A-Allels von rs6465084 auf das Schizophrenierisiko replizieren und in der Patientengruppe (nicht aber in der Kontrollgruppe) eine Assoziation des Genotyps zur Aufmerksamkeit (*Zahlensymboltest*) zeigen. Der Genotyp AA schnitt schlechter ab und bestätigte das A-Allel als Risikofaktor für beeinträchtigte Kognition. Eine Untersuchung von Schwab et al. (2008) lieferte eine schwache Tendenz in der gleichen Richtung: im *Stroop-color-naming*-Test für selektive Aufmerksamkeit schnitt das A-Allel bei Patienten schlechter ab, allerdings deutlich oberhalb des Signifikanzniveaus ( $p=0,228$ ).

Egan und Kollegen vermuten, dass die Gemeinsamkeit zwischen den beiden in ihrer Studie signifikant assoziierten Phänotypen (Wortflüssigkeit und Wortlistenlernen) das Wiederabrufen von verbaler Information (*verbal retrieval*) sein könnte. Dieser Phänotyp könnte auch den Assoziationen der hier vorliegenden Untersuchung zugrunde liegen. Sowohl das Finden von sprachlichen Überbegriffen (Untertest *Gemeinsamkeiten finden*) wie auch das sprachliche Wissens- und Wortschatzniveau, das durch die Untertests *Allgemeines Wissen*, *Wortschatztest* und *Allgemeines Verständnis* erhoben wird, basieren darauf, dass verbal enkodiertes Wissen schnell und zuverlässig abrufbar ist. Das Wiederabrufen von Information kann als Teilaspekt des episodischen Gedächtnisses verstanden werden.

Unterstützt wird diese Interpretation durch Bildgebungsdaten aus den Studien von Egan et al. (2004), Tan et al. (2007) und de Quervain und Papassotiropoulos (2006). Die Studie von Egan et al. hatte an gesunden Probanden Korrelate des Arbeits- und episodischen Gedächtnisses in der funktionellen Magnetresonanztomographie untersucht und einen Einfluss des Genotyps auf Gehirnaktivierungsmuster in gedächtnisrelevanten Gehirnregionen festgestellt. Die Probanden absolvierten unter anderem eine Aufgabe für das episodische Gedächtnis, die normalerweise zu einer Aktivierung des Hippocampus führt. Dabei korreliert die bessere Gedächtnisleistung typischerweise mit einer stärkeren Aktivierung. Es zeigten sich beim Genotyp AA im rechten Hippocampus verringerte Aktivierungsmuster während des Lernens, was (so vermuten die Autoren) für eine verminderte Enkodierung von Information spricht. Beim Abrufen des Gelernten gab es in der Bildgebung keine Aktivitätsunterschiede. Während des *N-back*-Tests (der das Arbeitsgedächtnis testet) war beim Genotyp AA eine höhere präfrontale Aktivierung (Brodmann-Area 46) festzustellen als bei Genotyp GG, wobei eine höhere Aktivierung hier auf ineffizienteres Arbeiten hindeutet. An einer kleinen Subgruppe von 29 gesunden Kontrollpersonen aus dem NIMH-Kollektiv wies die selbe Arbeitsgruppe (Tan et al. 2007) den Einfluss des Genotyps AA von rs6465084 auch im Rahmen der COMT-GRM3-Interaktion nach. Bei der epistatischen Betrachtung zeigte sich für die Kombination der beiden ungünstigen Varianten (COMT Val/Val x GRM3 rs6465084-AA) beim *N-back*-Test ebenfalls eine deutlich höhere Aktivität im dorsolateralen präfrontalen Cortex (das heißt ein ineffektiveres Arbeitsgedächtnis) als bei COMT-Val/Val x GRM3-G-Trägern ( $p=0,039$ ).

Die unabhängige Studie von de Quervain und Papassotiropoulos (2006) verfolgte einen etwas anderen Ansatz: Man errechnete aus sieben mit dem episodischen Gedächtnis assoziierten SNPs und Haplotypen einen genetischen Score, der mit dem Gedächtnis assoziiert wurde. Je mehr mit gutem Gedächtnis assoziierte genetische Varianten ein Proband hatte, umso höher sein Punktwert (IMAGS, *individual memory-associated genetic score*). Ein höherer IMAGS war signifikant mit besserem episodischem Gedächtnis ( $p=0,00008$ ) und mit vermehrter Aktivierung im Hippocampus während der Lernphase eines Gedächtnistests verbunden. In diesen 7-Gencluster ging ein GRM3-



Haplotyp ein, der in der Originalveröffentlichung aber nicht genauer beschrieben wurde. In einer neueren Replikationsstudie (Jablensky et al. 2011) wird angegeben, dass dieser Haplotyp aus rs6465084 und rs2189814 bestanden habe. Jablensky et al. konnten den Einfluss dieses GRM3-Haplotyps auf das episodische Gedächtnis an gesunden Personen zum Teil replizieren und darüber hinaus seinen Einfluss auch auf die kognitiven Defizite von schizophrenen Patienten belegen. Bildgebende Untersuchungen wurden von Jablensky und Kollegen nicht durchgeführt; das Gedächtnis wurde durch den *Rey Auditory Verbal Learning Test* (RAVLT) getestet. Bei der Einzelanalyse der SNPs des Haplotyps trug rs6465084 allerdings nicht zur Testvarianz bei.

Der Einfluss von GRM3 auf das Gedächtnis wird durch diese beiden Studien bestätigt; die Belege für eine Assoziation des Polymorphismus rs6465084 zum episodischen Gedächtnis bleiben jedoch widersprüchlich. Vor allem die Ergebnisse der Studie von de Quervain sind aufgrund des Gencluster-Ansatzes nur schlecht vergleichbar. In den erwähnten Studien wurden unterschiedliche Tests angewandt, so dass kritisch zu fragen ist, ob die erhobenen Gedächtnis-Phänotypen wirklich vergleichbar sind. Das episodische Gedächtnis ist ein phänotypisch komplexes Merkmal. Heterogene kognitive Merkmale können in immer genauere und homogenere intermediäre Phänotypen aufgegliedert werden, die dann vermutlich auch genetisch weniger heterogen sind (Congdon et al. 2010; Pietropaolo & Crusio 2011; Wüst & de Geus 2011). Das episodische Gedächtnis kann durch eine Vielzahl von intermediären Phänotypen experimentell getestet werden (Papassotiropoulos & de Quervain 2011; Rasch et al. 2010). Allerdings ist bei den üblicherweise getesteten Phänotypen der Zusammenhang zwischen der Testaufgabe und dem darunterliegenden kognitiven Prozess oft unklar. Durch die Tests werden häufig weitere Merkmale wie Aufmerksamkeit, Motivation, Arbeitsgedächtnis oder Verarbeitungsgeschwindigkeit in unterschiedlichem Maße mit erfasst und beeinflussen die Testergebnisse. Die Phänotypen, die in der hier vorgelegten Studie durch die HaWIE-Untertests geprüft wurden, erfassen das episodische Gedächtnis nur indirekt, so dass die vorliegenden Ergebnisse nicht als direkte Replikation bisheriger Assoziationen gewertet werden können, auch wenn sie die prinzipielle Assoziation des SNPs mit der Kognition bestätigen.

In diesem Zusammenhang muss man kritisch fragen, ob die aus der differenzialpsychologischen Tradition kommenden klassischen Intelligenztests wie der HaWIE die richtigen Phänotypen untersuchen, um der Genetik der Kognition näherzukommen. Andererseits ist noch unklar, ob der dissezierende Endophänotypenansatz zum Erfolg führen wird. Bisherige genomweite Studien zu verschiedenen intermediären kognitiven Phänotypen (Papassotiropoulos et al. 2006; Need et al. 2009; Docherty et al. 2010; Cirulli et al. 2010; Davies et al. 2011; Papassotiropoulos et al. 2011) waren nicht erfolgreicher bei der Suche nach genetischen Ursachen als Studien zu dem komplexen Merkmal *g* (Butcher et al. 2008; Davis et al. 2010). Insofern muss *g* nach wie vor als ein sinnvolles Maß für die Kognition angesehen werden.

#### 4.1.2.2 *Richtung der Assoziation*

In unserer Studie waren der Genotyp GG und das G-Allel von rs6465084 assoziiert mit besseren kognitiven Leistungen. Dies entspricht der Assoziationsrichtung der meisten anderen Studien zu diesem SNP, in denen G mit besseren und A mit schlechteren kognitiven Leistungen (Egan et al. 2004; Mössner et al. 2008) in Verbindung gebracht wurde und das A-Allel mit dem Risiko für Schizophrenie (Egan et al. 2004; Mössner et al. 2008), für Depression (Tsunoka et al. 2009) und für psychotische Episoden bei der bipolaren Störung (Green et al. 2006) assoziiert war. Eine deutsch-amerikanische Studie (Nicodemus et al. 2006) konnte allerdings ein erhöhtes Schizophrenierisiko für rs6465084-G-Allelträger zeigen, die gleichzeitig einen COMT-Risikohaplotyp tragen, und in einer weiteren Studie (Dalvie et al. 2010) war das Risiko für psychotische Symptome bei bipolaren Patienten – anders als in der Studie von Green et al. (2006) – nicht mit dem A-, sondern mit dem G-Allel von rs6465084 assoziiert (siehe Tabelle 4.1, Seite 91). Als eine denkbare Erklärung führen die Autoren der Studie auf, dass das A-Allel mit einer reduzierten Exekutivfunktion verbunden sein könnte, wie sie für manche schizophrenen und depressiven Zustände typisch ist, während das G-Allel mit erhöhter Exekutivfunktion einhergeht, wie sie bei der Manie auftritt. Eine mögliche Erklärung für diese Divergenzen wäre daher, dass die Stichproben zu heterogen und schlecht vergleichbar sind, wenn nur nach Diagnosen wie „bipolar“ oder „schizophren“ vorgegangen wird. Diese Diagnosen können eine breite Palette von sehr unterschiedlichen Symptomen enthalten, die pathogenetisch heterogen sind.

Hilfreich kann in solchen Fällen die Unterteilung der Patienten in genauer differenzierte symptom-spezifische Untergruppen sein, um sie besser vergleichbar zu machen und um genetische Einflüsse besser fassen zu können. Diese Methode wurde von Jablensky et al. (2011) angewandt. Jablensky und Kollegen untersuchten bei einer australischen Gruppe von Schizophrenen und gesunden Kontrollen den gleichen Gen-Cluster wie De Quervain und Papassotiropoulos (2006) und konnten Assoziationen von GRM3 und zwei weiteren Genen (GRIN2B und PRKCA) mit der Gedächtnisleistung bei Gesunden und Patienten bestätigen. Die 336 Schizophrenen, die an der Studie teilnahmen, wurden in drei Untergruppen unterteilt: kognitiv stark beeinträchtigt (n=155 Patienten), kognitiv nicht oder gering beeinträchtigt (n=121) und nicht eindeutig zuordenbar (n=60). Bei diesen verschiedenen Gruppen zeigte sich ein entgegengesetzter Einfluss des GRM3-Haplotyps (rs2189814 und rs6465084) auf das episodische Gedächtnis: der Haplotyp CA war bei den Kontrollen mit signifikant besserer und bei der Untergruppe der schwer beeinträchtigten Schizophreniepatienten mit schlechterer Gedächtnisleistung assoziiert. Für die kognitiv nicht beeinträchtigten Patienten ergab sich kein signifikanter Zusammenhang. In der Gesamtgruppe hob sich der Einfluss auf.

**Tabelle 4.1: Assoziationen der Genotypen und Allele von rs6465084 in der vorliegenden und in weiteren Studien. Aufgeführt sind nur Studien mit signifikanten Assoziationen.**

untersuchter Phänotyp	Vergleich der drei Genotypen AA / AG / GG	Vergleich Homozygote / Allelträger		Vergleich der Allele A / G
		AA / G-Allelträger	GG / A-Allelträger	
diese Studie:				
HaWIE-Verbal-IQ	n. s.	n. s.	GG > A-Allelträger (p=0,091)	n. s.
Subtest <i>Allgemeines Wissen</i>	n. s.	AA < G-Allelträger (p=0,060)	n. s.	A < G (p=0,070)
Subtest <i>Wortschatztest</i>	n. s.	n. s.	n. s.	A < G (p=0,061)
Subtest <i>Allgemeines Verständnis</i>	n. s.	n. s.	n. s.	A < G (p=0,100)
Subtest <i>Gemeinsamkeiten finden</i>	n. s.	n. s.	GG > A-Allelträger (p= <b>0,049</b> )	n. s.
Egan et al. 2004:				
Schizophrenie				A > G (p=0,02)
Wortlistenlernen	AA < AG < GG (p=0,02)			
Wortflüssigkeit	AA < AG < GG (p=0,009)			
Gehirnfunktion in der Bildgebung		AA < G-Allelträger		
NAA-Konzentration	AA < AG < GG (p=0,02)			
EAAT2-mRNA		AA < G-Allelträger		
Marenco et al. 2006:				
NAA-Konzentration		AA < G-Allelträger (p=0,01)		
Mössner et al. 2008:				
Schizophrenie		AA > G-Allelträger (p=0,024)		A > G (p=0,027)
Aufmerksamkeit (Patienten)		AA < G-Allelträger (p=0,008)		
Green et al. 2006:				
bipolar				A > G (p=0,027)
bipolar mit Psychose				A > G (p=0,0061)
bipolar mit häufiger Psychose				A > G (p=0,0038)
Dalvie et al. 2010:				
bipolar mit Psychose				A < G (p=0,004)
Tsunoka et al. 2009:				
Depression				A > G (p=0,0371)
Nicodemus et al. 2006:				
Schizophrenie		AA < G-Allelträger (in Epistase mit COMT-val/val)		
Tan et al. 2007:				
Gehirnfunktion in der Bildgebung		AA < G-Allelträger (in Epistase mit COMT-val/val)		

n. s.: nicht signifiant.

Eine mögliche physiologische Erklärung für den gegenläufigen Effekt wäre, dass polymorphe Varianten in GMR3, die normalerweise zu einer optimalen Balance zwischen Glutamatsignal und Toxizität beitragen, in der veränderten Gehirnsituation bei Schizophrenie zu weiter verminderter NMDA-Rezeptoraktivität und verstärkter Neurotoxizität von Glutamat beitragen und daher zu gegensätzlichen Wirkungen bei gesunden und kranken Personen führen (Jablensky et al. 2011). Die Umkehr der Effektrichtung eines Allels in verschiedenen Populationen (*flip-flop*) ist darüber hinaus ein bekanntes Phänomen in der Genetik (Lin et al. 2007) und kann zum Beispiel auf unterschiedliche Umwelteinflüsse oder Variationen im Kopplungsungleichgewicht bei heterogenen Studienpopulationen zurückzuführen sein.

#### 4.1.2.3 **Der Einfluss von rs6465084 auf psychiatrische Krankheiten**

Die Ergebnisse der Studie von Jablensky und Kollegen sind ein Argument für die Untersuchung von immer genaueren Endophänotypen und die Bildung von immer homogenen Probandengruppen. Jablensky et al. stellten in ihrer Studie eine Korrelationsmatrix der durchgeführten Tests auf. Beim *Rey Auditory Verbal Learning Test* (RAVLT) für das episodische Gedächtnis waren die Ergebnisse für die sofortige und die verzögerte Wiedergabe von gelernten Wortlisten innerhalb aller Subgruppen hoch korreliert. Sofortige und verzögerte Wiedergabe waren bei Schizophrenen außerdem korreliert mit dem IQ, der Aufmerksamkeit (*Continuous Performance Test*) und der Wortflüssigkeit, allerdings nur bei der Gesamtgruppe der schizophrenen Patienten; bei den Untergruppen der stark beeinträchtigten und der nicht beeinträchtigten schizophrenen Patienten bestand jeweils keine Korrelation. Auch in der Kontrollgruppe ergab sich keine Korrelation. Die schizophrenen Patienten als Gesamtgruppe sind also in Bezug auf die verschiedenen kognitiven Phänotypen sehr heterogen. Die Autoren plädieren daher bei genetischen Assoziationsanalysen für eine Unterteilung von Schizophreniestichproben anhand von kognitiven Phänotypen.

Die phänotypische Heterogenität der klinischen Diagnosen Schizophrenie und bipolare affektive Störung trägt sicher bei zu der bisher inkonsistenten Studienlage zur Genetik dieser Krankheiten (Tabellen 1.2 und 1.3, Seite 41 und 44). Die genetische Assoziation bleibt verborgen, wenn man nur mit der Diagnose assoziiert. Der in der Jablensky-Studie nachweisbare Effekt des GRM3-Haplotyps auf das Gedächtnis von kognitiv beeinträchtigten Patienten war bei Betrachtung der gesamten Patientengruppe nicht signifikant. Da die Patientengruppen früherer Studien ebenfalls als klinisch heterogen angenommen werden können, könnte darin ein Grund für widersprüchliche Ergebnisse und fehlende Replikation liegen. Vermutlich ist eine genauere Zuordnung von Probanden zu den einzelnen Untertypen der Krankheiten nötig, um genetisch homogene Gruppen zu erhalten, bei denen man dann nach assoziierten Polymorphismen suchen kann.

Affektive Störungen wie Depression und bipolare Störung überlappen zudem in ihren Symptomen. Auch psychotische Störungen wie die Schizophrenie, die schizoaffective Störung und die bipolare affektive Störung überschneiden sich in der klinischen Präsentation: Halluzinationen und Wahnvorstellungen, wie sie für die Schizophrenie typisch sind, treten ebenso bei einem Teil der bipolaren Patienten auf. Man geht daher heute von einer gemeinsamen genetischen Basis der jeweiligen Phänotypen aus (Cherlyn et al. 2010; Craddock & Sklar 2009; Doherty et al. 2012; Ivleva et al. 2010; Maier & Rujescu 2010; Williams et al. 2011). Ähnliche Phänotypen könnten dabei eine vergleichbare Pathophysiologie und genetische Prädisposition reflektieren. Phänotypen der beeinträchtigten Kognition, wie sie sowohl bei der schweren Depression, der bipolaren Störung und der Schizophrenie vorkommen, könnten Folge der bei allen diesen Störungen veränderten glutamatergen Signaltransduktion sein. Da Glutamat als wichtigster exzitatorischer Neurotransmitter an vielen Gehirnfunktionen beteiligt ist, sind pleiotrope Effekte von GRM3 auf verschiedene Prozesse und Systeme wahrscheinlich (Dickinson & Ellevåg 2009).

Genauere Einblicke in die Genetik dieser klinisch überlappenden Störungen können zur Neudefinition der zunehmend in Frage gestellten bisherigen klinischen Kategorien von Schizophrenie, bipolarer Störung und anderen DSM-IV Achse 1–Störungen beitragen. So können nach einer neueren Hypothese Schizophrenie und bipolare Störung als phänotypische Ausprägungen einer neuronalen Störung gesehen werden, bei der die Art des Phänotyps, die sich ergibt, abhängig ist von der individuellen Kombination seltener, häufiger und polygener genetischer Faktoren und Umwelteinflüsse (Doherty et al. 2012).

#### **4.1.2.4 *Der Beitrag von GRM3 zur Neuropsychologie der Kognition***

Genetische Studien können, vor allem unter Integration der Bildgebung, das Verständnis für physiologische Abläufe und Signalwege weiter stärken. GRM3 hat eine hohe biologische Plausibilität als Einflussfaktor auf die Kognition. Der rs6465084-Genotyp scheint, wie oben erwähnt, mit Varianten in der Gehirnaktivierung in zwei Regionen des Gehirns assoziiert zu sein, die für die Physiologie des Gedächtnisses relevant sind: dem dorsolateralen präfrontalen Cortex für das Arbeitsgedächtnis (Egan et al. 2004; Tan et al. 2007) und dem Hippocampus für das episodische Gedächtnis (Egan et al. 2004; De Quervain et al. 2006). Interessant ist, dass der Einfluss des Genotyps auf die Biologie des Gehirns in der Bildgebung auch in den beiden NIMH-Versuchen (Egan et al. 2004; Tan et al. 2007) sichtbar war, obwohl diese Probanden nach der kognitiven Leistung ge“matched“ waren, sich also bezüglich der Testergebnisse eben nicht voneinander unterschieden. Das bedeutet, dass es in dieser Stichprobe keine Assoziation von Genotypen zu den Testwerten des *N-back*-Tests gab. Die Gedächtniskorrelate in der Bildgebung zeigten hier dennoch Assoziationen zum Genotyp von rs6465084, obwohl die klassischen testpsychologischen Werte nicht assoziiert waren. In der Bildgebung waren in diesen Studien genotypabhängige Unter-

schiede in der Arbeitsweise des Gehirns erkennbar, die zu vergleichbaren Leistungen in den kognitiven Tests führten.

Tan et al. (2007) konnten darüber hinaus zeigen, dass bei Individuen des ungünstigen Genotyps AA, die gleichzeitig die ungünstigere COMT-val/val-Variante tragen, bei Arbeitsgedächtnisaufgaben kompensatorisch die Aktivität im ventrolateralen präfrontalen Cortex (VLPFC) steigt. Diese Gehirnregion ist für einfache Aufgaben der kognitiven Steuerung zuständig. Gleichzeitig war die Koaktivität im dorsalen posterioren parietalen Cortex (PPC), zuständig für Aufmerksamkeitssteuerung, erhöht. Die untersuchten Genotypen scheinen also mit alternativen neuronalen Strategien verbunden zu sein, die bei der ineffizienteren Variante über die Aktivierung zusätzlicher Strukturen zu den gleichen Leistungen des Arbeitsgedächtnisses führen. Zu untersuchen wäre, ob sich bei anspruchsvolleren Aufgaben auch die Testergebnisse genotypabhängig unterscheiden würden. Dass es – auch bei gleichen Testergebnissen – unterschiedliche individuelle Strategien der Problemlösung gibt, bei denen verschiedene neuronale *pathways* und Gehirnstrukturen in unterschiedlichem Maße beteiligt sind, ist seit langem bekannt (Deary et al. 2010). Die durch GRM3 genetisch modulierte Glutamattransmission könnte einen kleinen Beitrag zu dieser Variabilität leisten. Andererseits gibt es inzwischen eine ganze Reihe von Studien (Überblick bei Deary et al. 2010), die deutliche Korrelationen von verschiedenen Bildgebungsdaten mit IQ-Testergebnissen zeigen, so dass Unterschiede in der Gehirnaktivierung, die sich nicht in unterschiedlichen Testergebnissen niederschlagen, zurückhaltend interpretiert werden sollten (Papassotiropoulos & de Quervain 2011).

In der Magnetresonanztomographie wurden positive Korrelation zwischen dem IQ und der Konzentration von N-Acetylaspartat (NAA) in verschiedenen Hirnregionen festgestellt (Deary et al. 2010). NAA, ein Metabolit der Oligodendrozyten der Myelinscheide, ist einer der häufigsten Metabolite im menschlichen zentralen Nervensystem und gilt in der MR-Spektroskopie als ein In-vivo-Marker für intakte neuronale Funktion (Backens 2010) und als indirekter Marker für die zerebrale Glutamatkonzentration. Das NAA-Signal ist bei zahlreichen neuronalen Pathologien verändert; bei der Schizophrenie ist es präfrontal und hippocampal häufig vermindert. Die Studien von Egan et al. (2004) und Marengo et al. (2006) konnten den Einfluss des Genotyps von rs6465084 auf die präfrontale NAA-Konzentration in vivo nachweisen und damit einen möglichen molekularen Wirkmechanismus von GRM3 aufzeigen. Ihre Ergebnisse unterstützen die These, dass die präfrontal veränderte Glutamatkonzentration mit der Pathogenese der Schizophrenie zusammenhängt. Der rs6465084-Genotyp AA, der in der Studie von Egan et al. mit einem erhöhten Schizophrenierisiko verbunden war, hatte geringere präfrontale NAA-Konzentrationen als die Genotypen GG ( $p=0,02$ ) und AG ( $p=0,03$ ). Diese Ergebnisse konnten zwei Jahre später von der gleichen Arbeitsgruppe an 54 gesunden Kontrollpersonen mit verbesserter MR-Spektroskopie-Technik wiederholt werden

(Marenco et al. 2006). Wieder war die NAA-Konzentration bei dem rs6465084-Genotyp AA im dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) niedriger als bei den G-Allel-Trägern, und zwar im rechten DLPFC signifikant niedriger ( $p=0,01$ ) und im linken sowie in der angrenzenden weißen Substanz niedriger mit Trend zur Signifikanz ( $p=0,09$ ). Die genotypabhängig veränderte NAA-Konzentration ist ein weiterer Hinweis auf mögliche physiologische *pathways*, durch die GRM3 seinen Einfluss auf die Kognition und auf das Schizophrenierisiko ausüben könnte. Allerdings gibt es bisher noch keine Replikationsstudien zu diesen Ergebnissen, die zudem an relativ kleinen Probandengruppen festgestellt wurden (250 bzw. 54 Personen).

#### 4.1.2.5 **Möglicher Wirkmechanismus des intronischen SNPs rs6465084**

Der hier untersuchte Polymorphismus rs6465084 liegt in Intron 2 des GRM3-Gens und hat keine bisher bekannte Funktion. Er ist wie alle in GRM3 bisher untersuchten SNPs nicht-kodierend und wirkt sich damit nicht auf die Aminosäuresequenz des Genprodukts aus. Über die Wirkmechanismen intronischer SNPs gibt es bisher nur Annahmen: Sie könnten einen regulatorischen Einfluss ausüben, etwa indem sie das Spleißen des Gens, die Faltung der DNA oder die Bindung von Transkriptionsenzymen verändern. Daher stellt sich die Frage, über welche Mechanismen die Gehirnfunktion so moduliert wird, dass es zu dem messbaren Einfluss des SNPs auf die Kognition und auf das Risiko für Schizophrenie, bipolare Störung und Depression kommt.

Eine Möglichkeit ist es, dass es noch unbekannte funktionelle GRM3-SNPs gibt, die mit rs6465084 (und mit weiteren bisher assoziierten SNPs des Gens) in Kopplungsungleichgewicht stehen. Derartige funktionelle Polymorphismen könnten die Arbeitsweise des Rezeptors und die Glutamat-Signalwirkung beeinflussen. rs6465084 wäre dann ein Marker für diese Polymorphismen.

Hinweise auf eine mögliche funktionelle Wirkung von GRM3-Polymorphismen auf die Regulation der Genexpression ergeben sich aus mehreren Untersuchungen von Post-mortem-Gewebeproben durch die Arbeitsgruppe um Weinberger und Kollegen. In der Studie von Egan et al. (2004) ergab sich ein marginaler Einfluss von rs6465084 auf die Menge von GRM3-mRNA in Gewebeproben des dorsolateralen präfrontalen Cortex von 14 – 18 gesunden Personen sowie von 10 – 19 schizophrenen Patienten. Die Expression des mGlu3-Rezeptors unterschied sich kaum zwischen Patienten und Kontrollen. Es zeigte sich aber ein Effekt auf die Expression des glialen Glutamat-transporters EAAT2 (der durch GRM3 reguliert wird und der die extrazelluläre Glutamatkonzentration beeinflusst). Die EAAT2-mRNA war beim AA-Genotyp bei Gesunden ( $p=0,006$  für kombinierte Lamina I,II und III und  $p=0,03$  für Lamina IV,V und VI) und bei der Gesamtgruppe ( $p=0,003$  für oberflächliche und  $p=0,095$  für tiefe Lamina) reduziert. Da EAAT2 durch GRM3 reguliert wird und die extrazelluläre Glutamatkonzentration beeinflusst, ergibt sich hier ein Hinweis auf einen möglichen physiologischen *pathway*. Kritisch anzumerken ist, dass diese Ergebnisse an einer sehr

geringen Zahl von Gewebepreparaten erhoben wurden und dass die Untersuchung von mRNA in Post-mortem-Gewebeproben technisch schwierig ist und zahlreichen Störfaktoren unterliegt (Akbarian et al. 2011). Replikationen der Ergebnisse an größeren Stichproben stehen noch aus.

Intronische SNPs können Einfluss auf das Spleißen von Genen nehmen. Die Beschreibung einer Spleißvariante von GRM3 durch die gleiche Arbeitsgruppe (Sartorius et al. 2006) führte zu der Frage, wie diese auf Schizophrenie oder andere Phänotypen einwirkt und ob ein Zusammenhang mit Polymorphismen dieses Gens existiert, zum Beispiel indem die SNPs einen Einfluss auf die Expressionslevel der verschiedenen Splicevarianten haben. Die Variante GRM3 $\Delta$ 4 (ohne Exon 4) führt zu einem um die Transmembran-Domäne verkürzten, möglicherweise löslichen Rezeptor und lässt sich prinzipiell im Gehirn von gesunden wie kranken Individuen nachweisen. In zwei unabhängigen Gewebekollektionen (NIMH-Kollektion: Post-mortem-Material von 33 schizophrenen Patienten und 70 Kontrollpersonen; Stanley-Array-Kollektion: Gewebe von 34 schizophrenen Patienten, 33 bipolaren Patienten, 35 Kontrollen) unterschieden sich Patienten und Kontrollen nicht in der Menge an mRNA der Spleißvariante GRM3 $\Delta$ 4 im dorsolateralen präfrontalen Cortex (Sartorius et al. 2008). Die weiteren Ergebnisse waren inkonsistent: Die Expression des mRNA-Transkripts des vollständigen Rezeptors ( $p=0,02$ ) und der gesamten mRNA (Summe aller Isoformen,  $p=0,01$ ) im dorsolateralen präfrontalen Cortex war in der NIMH-Gewebekollektion bei den Schizophrenen signifikant erhöht, in der Replikationskollektion jedoch nicht. Hier zeigte sich lediglich eine Tendenz zu erhöhter Gesamtexpression bei der bipolaren Untergruppe ( $p=0,1$ ). Im Hippocampusgewebe (nur NIMH-Kollektion: 30 Schizophrene, 71 Kontrollen) gab es keinen Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen. Es gibt insgesamt also allenfalls schwache Hinweise auf verändertes GRM3-Splicing bei Schizophrenie.

Es ist jedoch möglich, dass potentiell funktionsrelevante Veränderungen in der GRM3-Expression bei genetisch dazu disponierten Betroffenen auftreten. Die Studie von Sartorius et al. (2008) untersuchte dazu 8 SNPs aus GRM3. Der Genotyp von rs6465084 hatte keinen Einfluss auf die Expression der verschiedenen Spleißvarianten. Zwei andere GRM3-SNPs, darunter ein exonischer SNP, zeigten einen Zusammenhang mit dem Spleißen des Gens und der Menge der Isoform GRM3 $\Delta$ 4 relativ zum kompletten GRM3-Transkript. Die seltenere T-Allel-Variante des SNPs rs2228595 aus Exon 3, die mit einem erhöhten Schizophrenierisiko assoziiert ist (Martí et al. 2002, Egan et al. 2004), war bei Schizophrenen und Kontrollpersonen assoziiert mit vermehrter Expression von GRM3 $\Delta$ 4 im dorsolateralen präfrontalen Cortex (NIMH-Kollektion:  $p=0,008$ ; Stanley-Kollektion:  $p=0,43$ , kombinierte Gruppen:  $p=0,011$ ), nicht jedoch im Hippocampus. Weiterhin war bei Heterozygoten des SNP rs7804100 die Splicevariante GRM3 $\Delta$ 4 niedriger exprimiert als bei AA- und GG-Homozygoten (NIMH-Kollektion: DLPFC  $p=0,001$ ; Hippocampus:  $p=0,004$ ; Stanley-Kollektion:  $p=0,88$ ; kombinierte Gruppen:  $p=0,006$ ). Haplotypanalysen ergaben, dass Heterozygotität in



diesem SNP fast immer gemeinsam vorkommt mit dem C-Allel von SNP rs2228595, der ebenfalls mit niedriger GRM3 $\Delta$ 4-Expression verbunden ist. Die Autoren der Studie vermuten, dass das veränderte Spleißen von GRM3 ein Mechanismus sein könnte, durch den das Gen zum Schizophrenierisiko beiträgt. Der genaue Mechanismus des Einflusses auf den Rezeptor ist jedoch unklar. Ob und wie diese Isoform des Rezeptors die biologische Funktion verändert, ist nicht bekannt. Andererseits könnten auch Veränderungen der Rezeptorfunktion auftreten, ohne dass die mRNA-Menge verändert ist. Es sollte zudem bedacht werden, dass die Gentranskription ein hochkomplexer dynamischer Prozess ist, der zahlreiche zelluläre Schritte und Moleküle umfasst, die in Gewebepräparaten technisch nur schwer zu untersuchen sind (Akbarian et al. 2011). Einschränkung ist weiterhin zu bemerken, dass die Anzahl der Patienten in dieser Studie zu gering war, um kleinere Effektgrößen zu entdecken.

#### 4.1.2.6 **Gen-Gen und Gen-Umwelt-Interaktionen**

Heutige Modelle der Genetik der Kognition gehen von einer dynamischen Wechselwirkung von Anlage, Umwelt und Verhalten aus (Bearden et al. 2012; Deary et al. 2009; Docherty et al. 2011; Johnson et al. 2007; Payton 2009; Vinkhuyzen et al. 2010; Winkler et al. 2010). Neben den bereits erwähnten Faktoren (genaue Definition der Phänotypen, gute Psychometrie und klare Konzepte für die dahinterstehende Neurobiologie) ist die Einbeziehung von Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen sowie von epigenetischen Einflüssen wichtig für Studien zur Genetik der Kognition. Ein Gen ist nicht eine starre Einheit mit einer immer gleichen Funktion, sondern es hat zu verschiedenen Zeitpunkten der Entwicklung und in verschiedenen Geweben unterschiedliche Aufgaben, es modifiziert oder ändert die Funktion anderer Gene und reagiert auf Umwelteinflüsse oder braucht einen Auslöser aus der Umwelt, um aktiv zu werden. Bei komplexen Merkmalen wie der Kognition gibt es zahlreiche interagierende genetische Effekte und Umwelteinflüsse. Diese Einflüsse haben von Mensch zu Mensch unterschiedliche Konstellationen, die alle einen Einfluss auf einen Messwert wie zum Beispiel ein psychometrisches Testergebnis haben können. Einzelne genetische Einflüsse auf die Kognition treten eventuell nur in bestimmten Gen-Gen- oder Gen-Umwelt-Konstellationen oder in bestimmten Entwicklungsphasen auf. Gen-Gen-Interaktionen und Gen-Umwelt-Interaktionen können daher zu inkonsistenten Studienergebnisse führen, denn die Einflüsse einer genetischen Variante können sich auf bestimmte Subgruppen von Studienpopulationen auswirken, ohne in der Gesamtstichprobe statistisch signifikant zu sein.

#### **Gen-Gen-Interaktion**

Die Glutamatsignalwege sind komplex und eingebunden in Interaktionen mit anderen Neurotransmittern wie zum Beispiel Dopamin. Für GRM3 wurden Gen-Gen-Interaktionen mit dem Gen der Catechol-O-Methyltransferase (COMT) nachgewiesen. Diese beiden Gene interagieren unter anderem in Bezug auf die Effizienz corticaler Exekutivprozesse. Glutamaterge und dopaminerge

Einflüsse wirken bei der Leistung des Arbeitsgedächtnisses (Tan et al. 2007) und bei dem Risiko für Schizophrenie (Nicodemus et al. 2006) zusammen.

### **Gen-Umwelt-Interaktion**

Bei Gen-Umwelt-Interaktionen modulieren genetische Faktoren die Vulnerabilität oder Resilienz gegenüber bestimmten Umwelteinflüssen, so dass genetische Polymorphismen in dem einen Kontext wenig oder keinen Einfluss haben, aber großen Einfluss unter anderen Bedingungen. Eines der ersten Beispiele einer Kandidatengenstudie zu Gen-Umwelt-Interaktionen war die Arbeit von Caspi und Kollegen (2003), die zeigen konnten, dass ein Polymorphismus im Serotonin-Transporter-Gen 5-HTT einen Einfluss darauf hat, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine hohe Stressbelastung zum Auftreten einer Depression führt. Im Bereich der Intelligenz zeigte eine weitere Studie von Caspi et al. (2007), dass der positive Einfluss des Stillens auf die kindliche Intelligenz von einer genetischen Variation im FADS2-Gen für den Fettsäurestoffwechsel abhängt. Die Tatsache, dass in der Kindheit der genetische Einfluss auf den IQ bei hohem sozioökonomischen Status besonders hoch ist, könnte als Gen-Umwelt-Interaktion interpretiert werden (Deary et al. 2010). Für GRM3 wurde bisher in zwei Studien der Einfluss von hypoxischen Geburtskomplikationen in Interaktion mit GRM3-Polymorphismen auf das Schizophrenierisiko und auf Bildgebungsdaten des Hippocampus nachgewiesen (Nicodemus et al. 2008; Haukvik et al. 2010); der hier untersuchte Polymorphismus rs6465084 war jedoch nicht assoziiert.

#### **4.1.2.7 Epigenetische und zeitliche Einflüsse**

### **Epigenetik**

Genexpression und Phänotyp werden auch durch epigenetische DNA-Modifikationen beeinflusst, deren molekulare Mechanismen zunehmend bekannt werden: Auch hier wird das Bild einer komplexen und dynamischen Interaktion zwischen DNA-Sequenz, epigenetischen Modifikationen, Umwelt und Genexpression deutlich (Haque et al. 2009; Payton 2009). Die Untersuchung eines einzelnen SNPs wie in der hier vorgelegten Studie ist ein „univariater Ansatz für ein multivariates Problem“ (Dickinson & Elvevåg 2009) und kann immer nur einen kleinen Aspekt des genetischen Einflusses aufzeigen. Einzel-SNPs sind in der Regel nicht allein für die Ausprägung komplexer Eigenschaften verantwortlich. Eine Herausforderung für zukünftige Studien wird es sein, die vielen kombinatorischen Möglichkeiten, die sich durch die Interaktionen innerhalb eines Gens (Haplotypenanalyse), zwischen mehreren Genen, zwischen Genen und Umwelt und durch epigenetische Mechanismen ergeben, zu erfassen und in Kombination zu untersuchen.

### **Zeitliche Entwicklungslinien**

Die Kognition unterliegt altersabhängigen Veränderungen, was in die Normierung von Intelligenztests nach Altersgruppen Eingang findet. Auch die Gehirnentwicklung, -morphologie und -funktion

sowie die neuronalen Reparaturmechanismen verändern sich im Laufe der Lebensspanne. Diese Veränderungen unterliegen genetischen Einflüssen und sind in unterschiedlichem Maße mit kognitiven Fähigkeiten korreliert (Überblick bei Deary et al. 2009; Deary et al. 2010). Entwicklungsmuster des Gehirns bei Kindern und Jugendlichen, so zeigen longitudinale Bildgebungsstudien, scheinen mit der Varianz bei kognitiven Merkmalen zusammenzuhängen. Zum Beispiel unterscheidet sich das kindliche Entwicklungsprofil der Cortex-Dicke je nach Intelligenzquotient (Ferrer et al. 2009; Deary et al. 2010). Diese zeitlichen Veränderungen haben komplexe Einflüsse auf Gen-Kognitions-Assoziationsanalysen.

Die GRM3-Expression in relevanten Gehirnregionen nimmt mit zunehmendem Lebensalter ab, was vermutlich mit der normalen Alterung des Gehirns zu tun hat (Colantuoni et al. 2008). Ob und wie die verringerte Expression des Rezeptors mit veränderten Gehirnfunktionen oder den im Alter typischerweise abnehmenden Rohwerten des Intelligenztests zusammenhängt, ist unklar. Die abnehmende Dichte der Rezeptoren im Laufe des Lebens könnte dazu führen, dass sich bei Untersuchungen zu GRM3-SNPs der Einfluss der SNPs auf den Phänotyp verändert und zu inkonsistenten Ergebnissen führt. Deshalb ist es wichtig, das Alter der Probanden mit einzubeziehen. In der hier vorliegenden Studie wurde das Alter als Kovariate in die Analyse der HaWIE-Untertests aufgenommen; der Gesamt-IQ, Verbal- und Handlungs-IQ lagen bereits alterskorrigiert vor, so dass das Alter hier nicht mit einbezogen werden musste.

## 4.2 Diskussion der Methoden

### 4.2.1 Studiendesign: Kandidatengen-basierte Assoziationsstudie

Sowohl das hypothesenfreie Durchsuchen des Genoms als auch die hypothesenbasierte Suche nach genetischen Variationen in Kandidatengen sind valide Strategien, um die genetische Architektur komplexer Verhaltensmerkmale und komplexer neuropsychiatrischer Störungen aufzuschlüsseln. Die beiden Verfahren liefern komplementäre Informationen auf verschiedenen Ebenen. Die hier vorliegende Studie ist eine Assoziationsstudie eines Kandidatengens.

#### 4.2.1.1 Teststärke und Stichprobengröße

Ein bekanntes Problem bei Kandidatengen-Assoziationsstudien, das die Reliabilität beeinflussen könnte, ist die mangelnde Teststärke. Das Studiendesign verlangt eine große Stichprobengröße, um Typ-1-Fehler zu vermeiden. Kleine Effektgrößen sind nur mit großen Stichproben nachweisbar. Power-Kalkulationen zeigen, dass etwa 1000 Probanden nötig sind, um genetische Effekte zu entdecken, die kleiner als 1% der Varianz sind (Cherlyn et al. 2010; Craig & Plomin 2006;

Hattersley & McCarthy 2005; Wüst & de Geus 2011). In unserer Studie wurden 1202 Personen untersucht. Daher können die Ergebnisse unserer Studie als reliabel angesehen werden.

Initiale Studien, die erste signifikante Assoziationen eines Polymorphismus entdecken, haben oft nur relativ geringe Stichprobengrößen und überschätzen häufig den Effekt. Gerade Assoziationen zu komplexen genetischen Phänotypen wie Kognition oder Erkrankungen wie Schizophrenie oder bipolare affektive Störung sind allgemein schwierig zu replizieren (Hattersley & McCarthy 2005; Sullivan 2007). Das ist nicht überraschend angesichts der angenommenen Heterogenität und der kleinen Effekte einzelner Gene. Replikationsstudien wie die hier vorgelegte untersuchen selektierte Varianten, die vorher schon einmal Assoziationen hervorbrachten. Es wird daher nur ein kleiner Teil der genetischen Variabilität des Kandidatengens untersucht, so dass negative Ergebnisse häufig sind. Replikationen auf der Allelebene eines SNPs sind seltener als Replikationen auf Genebene (Deary et al. 2009). Der assoziierte SNP rs6465084 könnte ein Marker in Kopplungsungleichgewicht mit einer funktionellen Variante sein. Ein systematisches Screenen des Kandidatengens auf ein umfassenderes Set von Markern könnte genauere Erkenntnisse über die genetische Architektur fördern, die der Assoziation zugrunde liegt.

Darüber hinaus ist eine genaue Definition von Replikation nötig, die die Übereinstimmung des untersuchten Phänotyps, der genetischen Marker, der statistischen Tests und der Richtung der Assoziation enthält (Sullivan 2007). In diesem Sinne liefert die in unserer Studie gezeigte Assoziation des G-Allels und des Genotyps GG mit besseren Leistungen in einigen sprachlichen HaWIE-Untertests zwar eine weitere Bestätigung der Assoziation von GRM3 zu kognitiven Phänotypen bei gesunden Personen, aber keine echte Replikation der rs6465084-Ergebnisse von Egan et al. (2004), Marengo et al. (2006), Mössner et al. (2008) und De Quervain und Papassotiropoulos (2006), da die untersuchten Phänotypen sich unterscheiden. Zu diesen Studien ist einschränkend zu sagen, dass die Probandengruppen oft sehr klein waren: 131 gesunde Kontrollpersonen bei Egan et al. (2004), 54 bei Marengo et al. (2006), 29 bei Tan et al. (2008), und 134 bei Nicodemus et al. (2008), und dass die Stichproben aus der amerikanischen NIMH-Arbeitsgruppe sich zum Teil überschneiden.

#### **4.2.1.2 *Populationsstratifikation und ethnische Abstammung der Probanden***

Eine weitere Fehlerquelle für falsch-positive und falsch-negative Assoziationen in Assoziationsstudien können Populationsstratifikationen sein. In Subgruppen der untersuchten Population, etwa in unterschiedlichen Ethnien, sozialen und geographischen Schichten, können die Allel- und Genotypfrequenzen unterschiedlich sein. Auch innerhalb der europäischen Völker und bei europäischstämmigen Amerikanern und Australiern (im anglosächsischen Sprachgebrauch häufig als

„Caucasians“ bezeichnet) können erhebliche genetische Stratifikationseffekte auftreten. Assoziationsstudien sollten daher nur in homogenen Populationen durchgeführt werden.

Bei rs6465084 differieren in europäischen Populationen die Allelfrequenzen geringfügig, während sich die asiatische Allelverteilung deutlich von der europäischen und afrikanischen unterscheidet. Die Frequenz des weniger häufigen G-Allels bewegt sich bei Europäern bei etwa 0,25. Dies wird sowohl durch öffentlich zugängliche Referenzgenome (Tabelle 4.2) wie auch durch ausgewählte Studien zu GRM3 belegt (Tabelle 4.3). In der vorliegenden Studie lag der Anteil des G-Allels bei 0,249 und entsprach damit dem Referenzgenom für Amerikaner europäischer Herkunft.

Eine deutlich andere Allelverteilung zeigt sich bei der ostasiatischen Bevölkerung. Das G-Allel ist dort wesentlich seltener. Im Referenzgenom der Amerikaner han-chinesischer Herkunft lag es bei 0,125 und in den japanischen Studien zu GRM3 noch etwas geringer bei etwa 0,075. Für afrikanische Populationen gibt es nur wenig Daten; das G-Allel scheint dort etwas häufiger zu sein als bei Europäern. Die afro-amerikanischen Referenzgenome führen eine Frequenz von etwa 0,3 auf. Die gemischt-südafrikanische Stichprobe der Studie von Dalvie (2010) liegt etwas darunter, jedoch immer noch über der europäisch-stämmigen Gruppe dieser Studie.

*Tabelle 4.2: Allel- und Genotypfrequenzen des SNPs rs6465084 in Abhängigkeit von der ethnischen Herkunft.*

Population	Allele		Genotypen		
	A	G	AA	AG	GG
AFD_AFR_PANEL n=23 Amerikaner afrikanischer Herkunft	0,696	0,304	0,522	0,348	0,130
AFD_CHN_PANEL n=24 Amerikaner han-chinesischer Herkunft	0,875	0,125	0,750	0,250	0
AFD_EUR_PANEL n=24 Amerikaner europäischer Herkunft	0,750	0,250	0,583	0,333	0,083
AoD_African_American n=45 Amerikaner afrikanischer Herkunft	0,710	0,290	n. a.	n. a.	n. a.
AoD_Caucasian n=46 Amerikaner europäischer Herkunft	0,800	0,200	n. a.	n. a.	n. a.
diese Studie n=1202 Deutsche aus dem Raum München	0,751	0,249	0,564	0,374	0,062

*n. a.: nicht angegeben.*

Quellen: Datenbank des HapMap-Projektes (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>), eigene Daten.

*Tabelle 4.3: Frequenzen des Minor-Allels (G-Allel) des SNPs rs6465084 in gesunden Kontrollen verschiedener Populationen anhand der Daten ausgewählter Studien.*

Population	Studie	Minor-Allel-Frequenz
europäisch	Egan et al. 2004	0,27
	Norton et al. 2005	0,25
	Green et al. 2006	0,25
	Nicodemus et al. 2006	0,25
	Schwab et al. 2008	0,24
	Mössner et al. 2008	0,26
	Betcheva et al. 2009	0,25
	Jönsson et al. 2009	0,24
	Dalvie et al. 2010	0,22
	Jablensky et al. 2011	0,24
gemischt-afrikanisch	Dalvie et al. 2010	0,24
japanisch	Tochigi et al. 2006	0,08
	Nunokawa et al. 2006	0,06
	Tsunoka et al. 2009	0,08

In der vorliegenden Studie wurden bei der Probandenauswahl strenge Kriterien angelegt und sorgfältig darauf geachtet, dass eine repräsentative Stichprobe für eine begrenzte geographische Population ausgewählt wurde. Die Probanden stammten alle aus dem Raum München und waren nach ihrer Selbstauskunft, ebenso wie ihre Eltern und Großeltern, deutscher Herkunft, so dass ethnische Unterschiede weitgehend auszuschließen sind. Trotzdem können weitere Stratifikationen auftreten, beispielsweise unterschiedliche Krankheitsprävalenzen, etwa von Diabetes oder Hypertonus, die eine Rolle beim kognitiven Abbau im Alter und bei der Demenz spielen, und die zu falschen Assoziationen führen können (Payton 2009).

Frühere Studien zum Einfluss von GRM3 auf die Kognition von psychiatrisch gesunden Personen (Egan et al. 2004; Marengo et al. 2006; De Quervain und Papassotiropoulos 2006; Jablensky et al. 2011; Mössner et al. 2008; Baune et al. 2010) wurden zwar alle an Europäern oder europäischstämmigen Personen durchgeführt, die Stratifikation, die innerhalb der Europäer besteht, könnte aber einen Teil zu den inkonsistenten Ergebnissen beitragen.

Die Studien zur Assoziation von GRM3 mit psychiatrischen Krankheiten wurden an unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen durchgeführt. Besonders die Ergebnisse asiatischer und europäischer Stichproben sind durch die unterschiedlichen Allel- und Genotypfrequenzen nicht gut vergleichbar. Dies könnte einer der Gründe für die bisherigen uneinheitlichen Ergebnisse sein.

**Tabelle 4.4: Studienergebnisse zur Assoziation zwischen GRM3 und psychiatrischen Krankheiten, nach ethnischer Zugehörigkeit der Probanden.**

ethnische Zugehörigkeit		Studie mit signifikanter Assoziation	Studie ohne Assoziation
europäisch oder europäisch-stämmig	deutsch	Martí et al. 2002 (S)	Martí et al. 2002 (S)
	deutsch		Martí et al. 2002 (B)
	deutsch	Mössner et al. 2008 (S)	
	deutsch	Nicodemus et al. 2006 (S)	
	deutsch, ungarisch und israelisch		Schwab et al. 2008 (S)
	skandinavisch		Jönsson et al. 2009 (S)
	schwedisch	Haukvik 2010 (S)	
	niederländisch und flandrisch		Van Winkel 2011 (P)
	britisch, irisch		Norton et al. 2005 (S)
	britisch, irisch	Green et al. 2006 (B)	
	bulgarisch		Betcheva et al. 2009 (S)
	bulgarisch		Yosifova et al. 2009 (B)
	aschkenasisch-jüdisch	Fallin et al. 2005 (B)	Fallin et al. 2005 (S)
	euro-amerikanisch	Egan et al. 2004 (S)	Egan et al. 2004 (S)
	euro-amerikanisch	Bishop et al. 2005 (S)	
	euro-amerikanisch	Nicodemus et al. 2006 (S)	
	euro-amerikanisch	Nicodemus et al. 2008 (S)	
	euro-amerikanisch	Fijal et al. 2009 (S)	
gemischt mit europäisch-stämmigem Anteil	amerikanisch		Bishop et al. 2007 (S)
	schottisch und gemischt-amerikanisch	Sklar et al. 2008 (B)	
	gemischt-amerikanisch	Greenwood et al. 2011 (S)	
	gemischt-amerikanisch	Bishop et al. 2011 (S)	
ostasiatisch	han-chinesisch	Chen et al. 2005 (S)	
	japanisch	Fujii et al. 2003 (S)	
	japanisch		Tochigi et al. 2006 (S)
	japanisch		Albalushi et al. 2008 (S)
	japanisch		Nunokawa et al. 2008 (S)
	japanisch	Tsunoka et al. 2009 (D)	Tsunoka et al. 2009 (B)
	japanisch		Tsunoka et al. 2011 (P)
	thai		Kerdsan et al. 2011 (P)
afrikanisch-stämmig	afro-amerikanisch	Egan et al. 2004 (S)	
	afro-amerikanisch	Fijal et al. 2009 (S)	
gemischt mit afrikan. und europ. Anteil	euro-südafrikanisch und gemischt-südafrikanisch	Dalvie et al. 2010 (B)	Dalvie et al. 2010 (B)

Studien werden mehrfach erwähnt, wenn mehrere Fragestellungen oder mehrere Probandengruppen getrennt untersucht wurden und unterschiedliche Ergebnisse brachten. In Klammern die untersuchte Fragestellung.

S: Schizophrenie; B: bipolare affektive Störung; D: Depression; P: Psychose.

Tabelle 4.4 führt die Studien zur psychiatrischen Krankheiten nach Ethnizität und Ergebnis auf. Es zeigt sich, dass die Ergebnisse auch innerhalb der europäischen, der asiatischen und der afrikanischen Studienpopulationen divergent sind. Das könnte an Statifikationen innerhalb der Studiengruppen, an weiteren Einflussfaktoren und auch an den unterschiedlichen Fragestellungen der einzelnen Studien liegen.

#### 4.2.2 Stichprobe: Rekrutierung und Einschlusskriterien

Die Probanden der vorliegenden Studie wurden in einem mehrstufigen Verfahren ausgewählt, um alle psychopathologischen und somatischen Faktoren zu erfassen, die Einfluss auf die kognitive Leistungsfähigkeit haben könnten. Da die Probanden auch als Kontrollpersonen für die Patientengruppe innerhalb der Gesamtstudie dienten, wurden sie sehr genau auf mögliche psychiatrische Erkrankungen hin untersucht, die ein Ausschlusskriterium waren. Trotzdem ist vor allem bei gesellschaftlich stigmatisierenden psychischen Krankheiten, bei Suchtproblemen und Suizidversuchen nicht auszuschließen, dass bei einzelnen Probanden derartige Krankheiten und Ereignisse vorlagen, aber verschwiegen wurden. Menschen mit psychiatrischen Krankheiten können unter kognitiven Einschränkungen leiden, so dass die Ergebnisse des Intelligenztests dadurch beeinflusst worden sein könnten. Die Teilnehmer der anderen Studien zu GRM3 sind sehr unterschiedlich zusammengesetzt, so dass die Vergleichbarkeit auch in dieser Hinsicht nicht immer gewährleistet ist.

In der Probandengruppe der vorliegenden Studie waren im Vergleich zum deutschen Durchschnitt (<http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Navigation/Statistiken/BildungForschungKultur/Bildungsstand/Bildungsstand.psml>) überproportional viele Leute mit hoher Bildung vertreten. Es ist anzunehmen, dass das Interesse möglicher Probanden an der Thematik durch ihren Bildungsstand beeinflusst wurde und dadurch mehr Personen mit hoher Bildung als Probanden gewonnen werden konnten. Bildung ging als Kovariate in die statistische Analyse ein.

#### 4.2.3 Psychometrische Verfahren, Intelligenztest

Die kognitiven Leistungen zwischen verschiedenen Personen variieren sehr stark und können gut durch Tests erfasst werden. Trotz aller Kontroversen zu den Fragen der Intelligenztheorie und der Intelligenzmessung ist die allgemeine Intelligenz  $g$  immer noch ein sinnvolles Maß für die Kognition, was durch eine große Fülle von Daten untermauert wird (Deary et al. 2009): Die allgemeine Intelligenz  $g$  trägt einen Großteil der Merkmalsvarianz bei der Intelligenz (Deary et al. 2009); sie ist ab dem Schulalter bis ins hohe Alter relativ stabil, das heißt, die Rangposition einer Person innerhalb der Bezugsgruppe bleibt gleich (Gow et al. 2011; Poustka & Maier 2009; Moffitt et al. 1993); und sie hat eine hohe Vorhersagekraft für erreichbare Bildung (Deary et al. 2007), Berufs-



erfolg (Gottfredson 1997) und Einkommen (Strenze 2007) sowie für Lebensdauer, Krankheit und Mortalität (Luciano et al. 2010; Batty et al. 2007).

Der in dieser Studie zur Intelligenzmessung verwendete HaWIE-R ist ein praktisch bewährter und auch in internationalen Studien häufig verwendeter Intelligenztest und ist daher trotz aller Mängel für die klinisch-psychologische Forschung konkurrenzlos (Guthke & Herzberg 1997). Nach den Gütekriterien ist der HaWIE-R ein ausreichend objektiver, reliabler und valider Test. Ein Kritikpunkt am HaWIE-R ist die Skalierung, denn der Test ist so konstruiert, dass er bis zu drei Standardabweichungen unter dem Erwartungswert sehr gut differenziert, überdurchschnittliche Leistungen aber nur bis zu zwei Standardabweichungen nach oben differenziert und daher im oberen Leistungsbereich keine genaue Messung ermöglicht. Er liefert im klinischen Alltag eine gute Abschätzung des Intelligenzstatus, kann jedoch in der hier untersuchten Stichprobe, in der ein überdurchschnittlich hoher Bildungsgrad vorlag, zu ungenauen Werten führen.

Der HaWIE-R kann nur eine bestimmte Art von intelligenter *performance* messen, die ein Individuum über die Zeit hin und eingebettet in seine jeweilige Umwelt mehr oder weniger gut entwickelt hat. Er muss sich damit der üblichen Kritik stellen, dass Intelligenztests bestimmte Gruppen von Menschen benachteiligen oder bevorzugen und zu vermeintlichen IQ-Unterschieden bei Geschlecht, ethnischen Gruppen, Bildung und Sozialstatus führen.

Um die bekannten Schwächen des HaWIE-R bei der Durchführungs- und Auswertungsobjektivität auszugleichen, wurden in dieser Studie alle Testleiter ausführlich geschult und supervidiert. Der Test wurde streng nach Handbuch durchgeführt. Trotzdem ist nicht auszuschließen, dass es durch die Interpretationsspielräume, die bei den Untertests *Allgemeines Wissen*, *Wortschatztest*, *Allgemeines Verständnis* und *Gemeinsamkeiten finden* bestehen, zu unterschiedlichen Punktvorgaben durch die einzelnen Testleiter kam. Störfaktoren während des Tests wie Nervosität, Hunger, Müdigkeit und fehlende Motivation der Testpersonen können die Testergebnisse verzerren und dazu führen, dass die genetische Komponente der Kognition eher überschätzt wird (Need et al. 2009). Es wurde daher darauf geachtet, diese Störfaktoren soweit wie möglich zu minimieren.

### 4.3 Ausblick

Diese Studie bestätigt einen kleinen Einfluss des Polymorphismus rs6465084 im GRM3-Gen auf einzelne Faktoren der psychometrischen Intelligenz, kann aber die Inkonsistenzen bisheriger Ergebnisse zu diesem Gen nicht beheben. Auch die Ergebnisse der Forschung zur Genetik der Intelligenz insgesamt sind bislang widersprüchlich und können nur einen kleinen Teil der normalen Variabilität erklären.

Die Genetik hat in den vergangenen Jahrzehnten große Fortschritte gemacht. Trotzdem sind bei komplexen Verhaltensmerkmalen und Krankheiten, die nicht der Mendelschen Vererbung folgen, die Erfolge bisher eher bescheiden. Gerade beim Einfluss der Genetik auf die höheren Gehirnfunktionen stellen sich noch viele Fragen – etwa danach, ob es noch entscheidende genetische Ursachen der Kognition gibt, die bislang nicht gefunden wurden, ob die bisherigen Vorstellungen über die Genetik des Phänotyps richtig waren oder ob die methodischen Ansätze geeignet sind. Für die weitere Forschung ergeben sich daher einige Überlegungen (Bearden et al. 2012; Collins et al. 2011; Deary et al. 2009; Marengo & Radulescu 2010; Parasuraman & Jiang 2012; Payton 2009; Schulze 2010).

#### 4.3.1 Komplexe Genetik kognitiver Phänotypen

Studien zur Genetik der Intelligenz müssen sowohl die komplexe Genetik des Phänotyps wie auch die Komplexität des Phänotyps an sich berücksichtigen. Das Zusammenwirken einer Vielzahl von genetischen Varianten zahlreicher Gene mit multiplen exogenen Faktoren bietet zahllose Kombinationsmöglichkeiten. Die kognitiven Gehirnfunktionen und neuronale Netzwerke, die dadurch gesteuert werden, sind ebenfalls überaus komplex. Funktionelle genetische Varianten können in zahlreiche verschiedene kognitive Prozesse eingebunden sein (Pleiotropie) und einzelne kognitive Vorgänge können durch multiple genetische Varianten moduliert werden (*polygenicity*).

Die Effekte einzelner genetischer Polymorphismen sind klein oder sehr klein. Die Analyse eines einzelnen intronischen SNPs wie in der hier vorliegenden Studie ist zwar wichtig; um zu weiterführenden Interpretationen zu kommen, bedarf es aber noch weiterer Forschung, um die Funktion von Introns besser zu verstehen. Die Effekte einzelner SNPs müssen in größere Zusammenhänge eingeordnet werden. Heute werden zunehmend Ansätze implementiert, die In-vivo-Daten verschiedener Gehirnregionen aus der Bildgebung, neurobiologische *pathways* und neurokognitive Phänotypen zusammenführen und auf gemeinsame genetische Varianten hin untersuchen.

Hypothesenbasierte Kandidatengen-Studien zur Kognition lieferten bislang oft widersprüchliche Ergebnisse, vielleicht weil die untersuchten Gene schlecht gewählt waren, also auf falschen Vorstellungen der zugrunde liegenden Physiologie beruhten, sei es, weil die Stichproben zu klein waren. Ein wichtiger Punkt in der heutigen Forschung ist die Suche nach neuen Kandidatengenen durch das Scannen des ganzen Genoms sehr großer Stichproben in genomweiten Assoziationsstudien (GWAS).

Während das Verständnis für die genetischen Grundlagen einiger Krankheiten (wie zum Beispiel Diabetes II) durch GWAS entscheidend vorangebracht wurde, führten die Ergebnisse von GWAS

zur Kognition und zu psychiatrischen Krankheiten bisher noch zu keinem Durchbruch. Allerdings ergaben einige GWAS zur Schizophrenie und zur bipolaren affektiven Störung neue und unerwartete Erkenntnisse über die Pathophysiologie und Entstehung dieser Krankheiten (Collins et al. 2011; Rujescu 2010; Schulze 2010). Die bisher am besten und häufigsten untersuchten Kandidatengene waren meist nicht signifikant assoziiert. Die signifikantesten Ergebnisse betrafen noch nicht untersuchte Gene, die ganz neue *pathways* und Mechanismen ergaben und zum Verständnis der Ätiopathologie von Krankheiten beitragen können. Es steht zu hoffen, dass sich derartige neue Erkenntnisse auch für die gesunde Kognition ergeben werden.

Die identifizierten genetischen Varianten erklären allerdings nur einen kleinen Teil der genetischen Variabilität komplexer Phänotypen. Die These von den vielen häufigen genetischen Varianten mit kleinem Effekt führte bisher nicht zur Aufklärung der genetischen Ursachen psychiatrischer Krankheiten und konnte auch die genetische Basis der gesunden Kognition noch nicht entschlüsseln. Wenn nur die besten Ergebnisse innerhalb einer letztlich willkürlich gezogenen Signifikanzgrenze gewertet werden, werden andere Gene, die wichtig sein können, die aber keine statistisch signifikanten p-Werte erreichen, übersehen. Außer den häufigen Allelen mit einer Minor-Allel-Frequenz von über fünf Prozent könnten auch seltene Varianten, die über die Generationen akkumulieren, IQ-Unterschiede bewirken (Deary 2012). Auch andere genetische Mechanismen, zum Beispiel *copy number variations* (Rujescu 2011; Yeo et al. 2011) müssen in Betracht gezogen werden.

#### 4.3.2 Komplexität kognitiver Phänotypen

Eine Voraussetzung für genetische Studien sind genau definierte und reliabel messbare Phänotypen. Kognitive Phänotypen, besonders die psychometrische Intelligenz, sind jedoch häufig heterogen, so dass die Subklassifizierung in intermediäre Phänotypen ein wichtiger Ansatzpunkt ist. Durch die Dissektion neurokognitiver Phänotypen und ihre eindeutige genetische Assoziation können, so die Annahme, die zugrundeliegenden Mechanismen der Kognition und die Pathogenese kognitiver Störungen genauer erkannt werden. Theoretisch wünschbar wären exakt definierte und reliabel messbare Größen, die genau definierte kognitive Funktionen und Prozesse abbilden und die dann im Detail auf ihre genetischen Assoziationen hin untersucht werden könnten. Diesem Wunsch sind aufgrund der Komplexität der Gehirnfunktionen und des Genoms praktische und ethische Grenzen gesetzt. Die systematische Charakterisierung und Rekonzeptualisierung neurokognitiver Phänotypen (Congdon et al. 2010; Bilder et al. 2011) kann dazu beitragen, dass zukünftige Studien besser vergleichbar werden, wenn die Phänotypen unter gleichen Bedingungen und durch die gleichen Tests erhoben werden (zur Systematisierung siehe [www.cognitiveatlas.org](http://www.cognitiveatlas.org)). Auch für die Daten aus den bildgebenden Verfahren sind Normierungen nötig, um sie besser vergleichbar zu machen.

### 4.3.3 Heterogenität der Stichproben

Probandenstichproben, die aufgrund von psychiatrischen Diagnose wie zum Beispiel „bipolar“ oder „Schizophrenie“ gebildet werden, sind durch die große Breite von Symptomen und Störungen, die diese Diagnosen umfassen, in sich heterogen. Daher ist es wahrscheinlich, dass der jeweils untersuchte Genotyp den untersuchten Phänotyp nur in bestimmten Subgruppen beeinflusst, so dass seine Wirkung in der Gesamtgruppe eventuell maskiert bleibt. Bei der Suche nach den genetischen Ursachen kognitiver Störungen kann daher auch die Bildung von homogenen Unterstichproben hilfreich sein.

### 4.3.4 Zukünftige Forschung

Für die Zukunft zeichnet sich ab, dass die Forschung zur Genetik der Kognition Genomik, Epigenomik, Umwelteinflüsse und Neurobildgebung weiter integrieren wird und Gene, neuronale Netze und Verhalten auf Systemebene, auch unter Einbeziehung neuer Bereiche wie Proteomik und Metabolomik, analysieren wird. Die Zusammenarbeit in großen Konsortien wird auch weiterhin wichtig sein, um große Probandenzahlen zu erreichen und in Metaanalysen Verbindungen zwischen unabhängigen Studien herstellen zu können. Zu wünschen ist schließlich die Integration verschiedener Forschungsansätze aus Medizin, Psychologie und Sozialwissenschaften, um das Denken des Menschen in seinen verschiedenen Dimensionen umfassend erforschen zu können.

## 5 Literatur

- Akbarian, S., Cheung, I., Connor, C., Jakovcevski, M., & Jiang, Y. (2011). Posttranslational Histone Modifications and the Neurobiology of Psychosis. *Brain, Behavior and Epigenetics* (pp. 1–21). Heidelberg, Dordrecht, London, New York: Springer.
- Albalushi, T., Horiuchi, Y., Ishiguro, H., Koga, M., Inada, T., Iwata, N., Ozaki, N., et al. (2008). Replication study and meta-analysis of the genetic association of GRM3 gene polymorphisms with schizophrenia in a large Japanese case-control population. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 147B(3), 392–396.
- Albizu, L., Moreno, J. L., González-Maeso, J., & Sealfon, S. C. (2010). Heteromerization of G Protein-Coupled Receptors: Relevance to Neurological Disorders and Neurotherapeutics. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 9(5), 636–650.
- Amelang, M., & Zielinski, W. (2002). *Psychologische Diagnostik und Intervention* (3. Auflage). Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Ampuero, E., Rubio, F. J., Falcon, R., Sandoval, M., Diaz-Veliz, G., Gonzalez, R. E., Earle, N., et al. (2010). Chronic fluoxetine treatment induces structural plasticity and selective changes in glutamate receptor subunits in the rat cerebral cortex. *Neuroscience*, 169(1), 98–108.
- Amthauer, R., Brocke, B., Liepmann, D., & Beauducel, A. (2001). *Intelligenz-Struktur-Test 2000 R (IST 2000)*. Göttingen: Hogrefe.
- Aronica, E., Gorter, J. A., IJlst-Keizers, H., Rozemuller, A. J., Yankaya, B., Leenstra, S., & Troost, D. (2003). Expression and functional role of mGluR3 and mGluR5 in human astrocytes and glioma cells: opposite regulation of glutamate transporter proteins. *European Journal of Neuroscience*, 17(10), 2106–2118.
- Asendorpf, J. (2007). *Psychologie der Persönlichkeit* (4., überarbeitete und aktualisierte Auflage). Berlin: Springer.
- Backens, M. (2010). Grundlagen der MR-Spektroskopie. *Der Radiologe*, 50(9), 767–774.
- Barnett, J. H., Scoriels, L., & Munaf , M. R. (2008). Meta-analysis of the cognitive effects of the catechol-O-methyltransferase gene Val158/108Met polymorphism. *Biological Psychiatry*, 64(2), 137–144.
- Barnett, J. H., & Smoller, J. W. (2009). The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience*, 164(1), 331–343.
- Batty, G. D., Deary, I. J., & Gottfredson, L. S. (2007). Premorbid (early life) IQ and later mortality risk: systematic review. *Annals of Epidemiology*, 17(4), 278–288.
- Baune, B., Suslow, T., Be te, C., Birosova, E., Domschke, K., Sehlmeier, C., & Konrad, C. (2010). Association between genetic variants of the metabotropic glutamate receptor 3 (GRM3) and cognitive set shifting in healthy individuals. *Genes, Brain and Behavior*, 9(5), 459–466.
- Bearden, C. E., Karlsgodt, K. H., Bachman, P., Erp, T. G. M. van, Winkler, A. M., & Glahn, D. C. (2012). Genetic Architecture of Declarative Memory Implications for Complex Illnesses. *The Neuroscientist*, 18(5), 516–532.

- Beneyto, M., Kristiansen, L. V., Oni-Orisan, A., McCullumsmith, R. E., & Meador-Woodruff, J. H. (2007). Abnormal glutamate receptor expression in the medial temporal lobe in schizophrenia and mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, 32(9), 1888–1902.
- Bennett, P., Segurado, R., Jones, I., Bort, S., McCandless, F., Lambert, D., Heron, J., et al. (2002). The Wellcome trust UK-Irish bipolar affective disorder sibling-pair genome screen: first stage report. *Molecular Psychiatry*, 7(2), 189–200.
- Benninghoff, A., & Drenckhahn, D. (2003). *Anatomie: Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie. Band 1: Zellen- und Gewebelehre, Entwicklungslehre, Skelett- und Muskelsystem, Atemsystem, Verdauungssystem, Harn- und Genitalsystem* (16. Auflage, Bde. 1-2, Bd. 1). München, Jena: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.
- Bespalov, A. Y., van Gaalen, M. M., Sukhotina, I. A., Wicke, K., Mezler, M., Schoemaker, H., & Gross, G. (2008). Behavioral characterization of the mGlu group II/III receptor antagonist, LY-341495, in animal models of anxiety and depression. *European Journal of Pharmacology*, 592(1-3), 96–102.
- Betcheva, E. T., Mushiroda, T., Takahashi, A., Kubo, M., Karachanak, S. K., Zaharieva, I. T., Vazharova, R. V., et al. (2009). Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population. *Journal of Human Genetics*, 54(2), 98–107.
- Bilder, R. M., Howe, A., Novak, N., Sabb, F. W., & Parker, D. S. (2011). The genetics of cognitive impairment in schizophrenia: a phenomic perspective. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(9), 428–435.
- Binet, A., & Henri, V. (1895). La psychologie individuelle. *L'Année Psychologique*, 2(1), 411–465.
- Binet, A., & Simon, T. (1905). Méthodes nouvelles pour le diagnostic du niveau intellectuel des anormaux. *L'Année Psychologique*, 11, 191–244.
- Birbaumer, N., & Schmidt, R. F. (2010). *Biologische Psychologie* (7., überarbeitete und ergänzte Auflage). Berlin: Springer.
- Bishop, J. R., Ellingrod, V. L., Moline, J., & Miller, D. (2005). Association between the polymorphic GRM3 gene and negative symptom improvement during olanzapine treatment. *Schizophrenia Research*, 77(2-3), 253–260.
- Bishop, J. R., Miller, D. D., Ellingrod, V. L., & Holman, T. (2011). Association between type - three metabotropic glutamate receptor gene (GRM3) variants and symptom presentation in treatment refractory schizophrenia. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 26(1), 28–34.
- Bishop, J. R., Wang, K., Moline, J., & Ellingrod, V. L. (2007). Association analysis of the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (GRM3) with schizophrenia. *Psychiatric Genetics*, 17(6), 358.
- Blasi, G., & Bertolino, A. (2006). Imaging genomics and response to treatment with antipsychotics in schizophrenia. *Neurotherapeutics*, 3(1), 117–130.
- Bliss, T. V. P., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31–39.

- Blouin, J. L., Dombroski, B. A., Nath, S. K., Lasseter, V. K., Wolyniec, P. S., Nestadt, G., Thornquist, M., et al. (1998). Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. *Nature Genetics*, 20(1), 70–73.
- Bouchard, T. J. (2009). Genetic influence on human intelligence (Spearman's g): How much? *Annals of Human Biology*, 36(5), 527–544.
- Bouchard, T. J., Lykken, D. T., McGue, M., Segal, N. L., & Tellegen, A. (1990). Sources of human psychological differences: the Minnesota Study of Twins Reared Apart. *Science*, 250(4978), 223–228.
- Bouchard, T. J., & McGue, M. (1981). Familial studies of intelligence: A review. *Science*, 212(4498), 1055.
- Bouchard, T. J., & McGue, M. (2003). Genetic and environmental influences on human psychological differences. *Journal of Neurobiology*, 54(1), 4–45.
- Brans, R. G. H., Kahn, R. S., Schnack, H. G., van Baal, G. C. M., Posthuma, D., van Haren, N. E. M., Lepage, C., et al. (2010). Brain Plasticity and Intellectual Ability Are Influenced by Shared Genes. *The Journal of Neuroscience*, 30(16), 5519–5524.
- Butcher, L. M., Davis, O. S. P., Craig, I. W., & Plomin, R. (2008). Genome-wide quantitative trait locus association scan of general cognitive ability using pooled DNA and 500K single nucleotide polymorphism microarrays. *Genes, Brain and Behavior*, 7(4), 435–446.
- Butcher, L. M., Kennedy, J. K., & Plomin, R. (2006). Generalist genes and cognitive neuroscience. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(2), 145–151.
- Buyske, S., Bates, M. E., Gharani, N., Matise, T. C., Tischfield, J. A., & Manowitz, P. (2006). Cognitive traits link to human chromosomal regions. *Behavior Genetics*, 36(1), 65–76.
- Cardno, A., & Gottesman, I. I. (2000). Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to Star Wars Mx and functional genomics. *American Journal of Medical Genetics*, 97(1), 12–17.
- Carlier, M., & Roubertoux, P. (2010). Genetics and cognition: The impact for psychologists in applied settings. *European Psychologist*, 15(1), 49.
- Carroll, J. B. (1993). *Human cognitive abilities: A survey of factor-analytic studies*. Cambridge University Press.
- Cartmell, J., & Schoepp, D. D. (2000). Regulation of Neurotransmitter Release by Metabotropic Glutamate Receptors. *Journal of Neurochemistry*, 75(3), 889–907.
- Casey, J. P., Magalhaes, T., Conroy, J. M., Regan, R., Shah, N., Anney, R., Shields, D. C., et al. (2012). A novel approach of homozygous haplotype sharing identifies candidate genes in autism spectrum disorder. *Human Genetics*, 1–15.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H. L., McClay, J., et al. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301(5631), 386.
- Caspi, A., Williams, B., Kim-Cohen, J., Craig, I. W., Milne, B. J., Poulton, R., Schalkwyk, L. C., et al. (2007). Moderation of breastfeeding effects on the IQ by genetic variation in fatty acid metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(47), 18860–18865.

- Cattell, J. M. K., & Farrand, L. (1896). Physical and mental measurements of the students of Columbia University. *Psychological Review*, 3(6), 618–648.
- Cattell, R. B. (1960). *Culture Fair Intelligence Test (CFT)*. Champaign, IL: Institute for Personality and Ability Testing.
- Cattell, R. B. (1963). Theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment. *Journal of Educational Psychology*, 54(1), 1–22.
- Chaki, S. (2010). Group II metabotropic glutamate receptor agonists as a potential drug for schizophrenia. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 59–66.
- Chaki, S., & Hikichi, H. (2011). Targeting of metabotropic glutamate receptors for the treatment of schizophrenia. *Current Pharmaceutical Design*, 17(2), 94–102.
- Chen, Q., He, G., Chen, Q., Wu, S., Xu, Y., Feng, G., Li, Y., et al. (2005). A case-control study of the relationship between the metabotropic glutamate receptor 3 gene and schizophrenia in the Chinese population. *Schizophrenia Research*, 73(1), 21–26.
- Cherlyn, S. Y. T., Woon, P. S., Liu, J. J., Ong, W. Y., Tsai, G. C., & Sim, K. (2010). Genetic association studies of glutamate, GABA and related genes in schizophrenia and bipolar disorder: A decade of advance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(6), 958–977.
- Chopra, M., Yao, Y., Blake, T. J., Hampson, D. R., & Johnson, E. C. (2009). The neuroactive peptide N-acetylaspartylglutamate is not an agonist at the metabotropic glutamate receptor subtype 3 of metabotropic glutamate receptor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 330(1), 212–219.
- Cirulli, E. T., Kasperaviciute, D., Attix, D. K., Need, A. C., Ge, D., Gibson, G., & Goldstein, D. B. (2010). Common genetic variation and performance on standardized cognitive tests. *European Journal of Human Genetics*, 18(7), 815–820.
- Colantuoni, C., Hyde, T. M., Mitkus, S., Joseph, A., Sartorius, L. J., Aguirre, C., Creswell, J., et al. (2008). Age-related changes in the expression of schizophrenia susceptibility genes in the human prefrontal cortex. *Brain Structure & Function*, 213(1-2), 255–271.
- Collins, A. L., Kim, Y., Sklar, P., O'Donovan, M. C., & Sullivan, P. F. (2011). Hypothesis-driven candidate genes for schizophrenia compared to genome-wide association results. *Psychological Medicine*, 1–10.
- Congdon, E., Poldrack, R. A., & Freimer, N. B. (2010). Neurocognitive Phenotypes and Genetic Dissection of Disorders of Brain and Behavior. *Neuron*, 68(2), 218–230.
- Conn, P. J., Lindsley, C. W., & Jones, C. K. (2009). Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(1), 25–31.
- Conn, P. J., & Pin, J.-P. (1997). Pharmacology and Functions of Metabotropic Glutamate Receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 37(1), 205–237.
- Conrad, D. F., Pinto, D., Redon, R., Feuk, L., Gokcumen, O., Zhang, Y., Aerts, J., et al. (2010). Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*, 464(7289), 704–712.



- Corti, C., Battaglia, G., Molinaro, G., Rizzo, B., Pittaluga, A., Corsi, M., Mugnaini, M., et al. (2007a). The use of knock-out mice unravels distinct roles for mGlu2 and mGlu3 metabotropic glutamate receptors in mechanisms of neurodegeneration/neuroprotection. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(31), 8297–8308.
- Corti, C., Crepaldi, L., Mion, S., Roth, A. L., Xuereb, J. H., & Ferraguti, F. (2007b). Altered dimerization of metabotropic glutamate receptor 3 in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 62(7), 747–755.
- Corti, C., Sala, C. F., Yang, F., Corsi, M., Xuereb, J. H., & Ferraguti, F. (2000). Genomic organization of the human metabotropic glutamate receptor subtype 3. *Journal of Neurogenetics*, 14(4), 207–225, 271.
- Craddock, N., & Sklar, P. (2009). Genetics of bipolar disorder: successful start to a long journey. *Trends in Genetics*, 25(2), 99–105.
- Craig, I. W., & Plomin, R. (2006). Quantitative trait loci for IQ and other complex traits: single-nucleotide polymorphism genotyping using pooled DNA and microarrays. *Genes, Brain and Behavior*, 5(S1), 32–37.
- Dalvie, S., Horn, N., Nossek, C., van der Merwe, L., Stein, D. J., & Ramesar, R. (2010). Psychosis and relapse in bipolar disorder are related to GRM3, DAOA, and GRIN2B genotype. *African Journal of Psychiatry*, 13(4), 297–301.
- Davies, G., Tenesa, A., Payton, A., Yang, J., Harris, S. E., Liewald, D., Ke, X., et al. (2011). Genome-wide association studies establish that human intelligence is highly heritable and polygenic. *Molecular Psychiatry*.
- Davis, O. S. P., Butcher, L. M., Docherty, S. J., Meaburn, E. L., Curtis, C. J. C., Simpson, M. A., Schalkwyk, L. C., et al. (2010). A three-stage genome-wide association study of general cognitive ability: hunting the small effects. *Behavior Genetics*, 40(6), 759–767.
- de Quervain, D. J.-F., & Papassotiropoulos, A. (2006). Identification of a genetic cluster influencing memory performance and hippocampal activity in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(11), 4270–4274.
- Deary, I. J. (2012). Intelligence. *Annual Review of Psychology*, 63(1), 453–482.
- Deary, I. J., Johnson, W., & Houlihan, L. M. (2009). Genetic foundations of human intelligence. *Human Genetics*, 126(1), 215–232.
- Deary, I. J., Penke, L., & Johnson, W. (2010). The neuroscience of human intelligence differences. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(3), 201–211.
- Deary, I. J., Strand, S., Smith, P., & Fernandes, C. (2007). Intelligence and educational achievement. *Intelligence*, 35(1), 13–21.
- Dick, D. M., Aliev, F., Bierut, L., Goate, A., Rice, J., Hinrichs, A., Bertelsen, S., et al. (2006). Linkage analyses of IQ in the collaborative study on the genetics of alcoholism (COGA) sample. *Behavior Genetics*, 36(1), 77–86.
- Dickinson, D., & Elvevåg, B. (2009). Genes, cognition and brain through a COMT lens. *Neuroscience*, 164(1), 72–87.

- Docherty, S. J., Davis, O. S. P., Kovas, Y., Meaburn, E. L., Dale, P. S., Petrill, S. A., Schalkwyk, L. C., et al. (2010). A genome-wide association study identifies multiple loci associated with mathematics ability and disability. *Genes, Brain and Behavior*, 9(2), 234–247.
- Docherty, S. J., Kovas, Y., & Plomin, R. (2011). Gene-environment interaction in the etiology of mathematical ability using SNP sets. *Behavior Genetics*, 41(1), 141–154.
- Doherty, J. L., O'Donovan, M. C., & Owen, M. J. (2012). Recent genomic advances in schizophrenia. *Clinical genetics*, 81(2), 103–109.
- Doumazane, E., Scholler, P., Zwier, J. M., Trinquet, E., Rondard, P., & Pin, J.-P. (2011). A new approach to analyze cell surface protein complexes reveals specific heterodimeric metabotropic glutamate receptors. *The FASEB Journal*, 25(1), 66–77.
- Dunayevich, E., Erickson, J., Levine, L., Landbloom, R., Schoepp, D. D., & Tollefson, G. D. (2007). Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder. *Neuropsychopharmacology*, 33(7), 1603–1610.
- Egan, M. F., Straub, R. E., Goldberg, T. E., Yakub, I., Callicott, J. H., Hariri, A. R., Mattay, V. S., et al. (2004). Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(34), 12604–12609.
- Eisenberg, D. P., & Berman, K. F. (2010). Executive function, neural circuitry, and genetic mechanisms in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 258–277.
- Ekelund, J., Lichtermann, D., Hovatta, I., Ellonen, P., Suvisaari, J., Terwilliger, J. D., Juvonen, H., et al. (2000). Genome-wide scan for schizophrenia in the Finnish population: evidence for a locus on chromosome 7q22. *Human Molecular Genetics*, 9(7), 1049.
- Erk, S., Meyer-Lindenberg, A., Schnell, K., Opitz von Boberfeld, C., Esslinger, C., Kirsch, P., Grimm, O., et al. (2010). Brain Function in Carriers of a Genome-wide Supported Bipolar Disorder Variant. *Archives of General Psychiatry*, 67(8), 803–811.
- Fallin, M. D., Lasseter, V. K., Avramopoulos, D., Nicodemus, K. K., Wolyniec, P. S., McGrath, J. A., Steel, G., et al. (2005). Bipolar I Disorder and Schizophrenia: A 440–Single-Nucleotide Polymorphism Screen of 64 Candidate Genes among Ashkenazi Jewish Case-Parent Trios. *American Journal of Human Genetics*, 77(6), 918–936.
- Faraone, S. V., Matise, T., Svrakic, D., Pepple, J., Malaspina, D., Suarez, B., Hampe, C., et al. (1998). Genome Scan of European-American Schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, 81, 290–295.
- Fell, M. J., McKinzie, D. L., Monn, J. A., & Svensson, K. A. (2012). Group II metabotropic glutamate receptor agonists and positive allosteric modulators as novel treatments for schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3), 1473–1483.
- Ferrer, E., O'Hare, E. D., & Bunge, S. A. (2009). Fluid reasoning and the developing brain. *Frontiers in Neuroscience*, 3, 1.
- Feyissa, A. M., Woolverton, W. L., Miguel-Hidalgo, J. J., Wang, Z., Kyle, P. B., Hasler, G., Stockmeier, C. A., et al. (2010). Elevated level of metabotropic glutamate receptor 2/3 in the prefrontal cortex in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34(2), 279–283.

- Fijal, B. A., Kinon, B. J., Kapur, S., Stauffer, V. L., Conley, R. R., Jamal, H. H., Kane, J. M., et al. (2009). Candidate-gene association analysis of response to risperidone in African-American and white patients with schizophrenia. *The Pharmacogenomics Journal*, 9(5), 311–318.
- Finkel, D., Pedersen, N. L., McGue, M., & McClearn, G. E. (1995). Heritability of cognitive abilities in adult twins: Comparison of Minnesota and Swedish data. *Behavior Genetics*, 25(5), 421–431.
- Flynn, J. R. (1984). The mean IQ of Americans: Massive gains 1932 to 1978. *Psychological Bulletin*, 95(1), 29–51.
- Flynn, J. R. (1987). Massive IQ gains in 14 nations: What IQ tests really measure. *Psychological Bulletin*, 101(2), 171–191.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), 189–198.
- Freudenberg, J., Cichon, S., Nöthen, M., & Propping, P. (2002). Blockstruktur des menschlichen Genoms. *Deutsches Ärzteblatt-Ärztliche Mitteilungen, Ausgabe A*, 99(47), 3190–3195.
- Fujii, Y., Shibata, H., Kikuta, R., Makino, C., Tani, A., Hirata, N., Shibata, A., et al. (2003). Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (GRM3) with schizophrenia. *Psychiatric Genetics*, 13(2), 71.
- Gabriel, S., Ziaugra, L., & Tabbaa, D. (2009). SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform. *Current Protocols in Human Genetics*, 60(2.12), 1–2.
- Galton, F. (1865). Hereditary talent and character. *Macmillan’s Magazine*, 12, 157–166.
- Galton, F. (1888). Co-relations and their measurement, chiefly from anthropometric data. *Proceedings of the Royal Society of London*, 45, 135–145.
- Gardner, H. (1983). *Frames of mind: The theory of multiple intelligences*. NY: Basic Books.
- Gaspar, P. A., Bustamante, M. L., Silva, H., & Aboitiz, F. (2009). Molecular mechanisms underlying glutamatergic dysfunction in schizophrenia: therapeutic implications. *Journal of Neurochemistry*, 111(4), 891–900.
- Gewirtz, J. C., & Marek, G. J. (2000). Behavioral Evidence for Interactions between a Hallucinogenic Drug and Group II Metabotropic Glutamate Receptors. *Neuropsychopharmacology*, 23(5), 569–576.
- Ghose, S., Gleason, K. A., Potts, B. W., Lewis-Amezcu, K., & Tamminga, C. A. (2009). Differential Expression of Metabotropic Glutamate Receptors 2 and 3 in Schizophrenia: A Mechanism for Antipsychotic Drug Action? *The American Journal of Psychiatry*, 166(7), 812–820.
- Goldman, D., Weinberger, D. R., Malhotra, A. K., & Goldberg, T. E. (2009). The Role of COMT Val158Met in Cognition. *Biological Psychiatry*, 65(1), e1–e4.
- González-Maeso, J., Ang, R. L., Yuen, T., Chan, P., Weisstaub, N. V., López-Giménez, J. F., Zhou, M., et al. (2008). Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis. *Nature*, 452(7183), 93–97.

- González-Maeso, J., & Sealfon, S. C. (2009). Psychedelics and schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, 32(4), 225–232.
- Gottesman, I. I., & Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American Journal of Psychiatry*, 160(4), 636.
- Gottfredson, L. S. (1997). Why g matters: The complexity of everyday life. *Intelligence*, 24(1), 79–132.
- Gow, A. J., Johnson, W., Pattie, A., Brett, C. E., Roberts, B., Starr, J. M., & Deary, I. J. (2011). Stability and change in intelligence from age 11 to ages 70, 79, and 87: The Lothian Birth Cohorts of 1921 and 1936. *Psychology and Aging*, 26(1), 232–240.
- Gravius, A., Pietraszek, M., Dekundy, A., & Danysz, W. (2010). Metabotropic glutamate receptors as therapeutic targets for cognitive disorders. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(2), 187–206.
- Green, E., Grozeva, D., Norton, N., Jones, I., Jones, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., et al. (2006). Variation at GRM3 influences susceptibility to psychotic bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 141, 697.
- Greenwood, T. A., Lazzeroni, L. C., Murray, S. S., Cadenhead, K. S., Calkins, M. E., Dobie, D. J., Green, M. F., et al. (2011). Analysis of 94 candidate genes and 12 endophenotypes for schizophrenia from the consortium on the genetics of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 168(9), 930–946.
- Guilford, J. P. (1956). The structure of intellect. *Psychological Bulletin*, 53(4), 267–293.
- Guilford, J. P., & Paul, J. (1967). *The nature of human intelligence*. McGraw-Hill New York.
- Guthke, J., & Herzberg, P. Y. (1997). Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene - Revision 1991 (HAWIE-R). *Zeitschrift für Differentielle und Diagnostische Psychologie*, 18, 39–42.
- Haque, F., Gottesman, I. I., & Wong, A. H. . (2009). Not really identical: epigenetic differences in monozygotic twins and implications for twin studies in psychiatry. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 151, 136–141.
- Harris, S. E., & Deary, I. J. (2011). The genetics of cognitive ability and cognitive ageing in healthy older people. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(9), 388–394.
- Harrison, P. J., Lyon, L., Sartorius, L. J., Burnet, P. W. J., & Lane, T. A. (2008). Review: The group II metabotropic glutamate receptor 3 (mGluR3, mGlu3, GRM3): expression, function and involvement in schizophrenia. *Journal of Psychopharmacology*, 22(3), 308.
- Harrison, P. J., & Weinberger, D. R. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular Psychiatry*, 10(1), 40–68.
- Hashimoto, K. (2011). The role of glutamate on the action of antidepressants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(7), 1558–1568.
- Hattersley, A. T., & McCarthy, M. I. (2005). What makes a good genetic association study? *The Lancet*, 366(9493), 1315–1323.

- Haukvik, U. K., Saetre, P., McNeil, T., Bjerkan, P. S., Andreassen, O. A., Werge, T., Jönsson, E. G., et al. (2010). An exploratory model for  $G \times E$  interaction on hippocampal volume in schizophrenia; obstetric complications and hypoxia-related genes. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(7), 1259–1265.
- Haworth, C. M. A., & Plomin, R. (2010). Quantitative Genetics in the Era of Molecular Genetics: Learning Abilities and Disabilities as an Example. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 49(8), 783–793.
- Haworth, C. M. A., Wright, M. J., Luciano, M., Martin, N. G., de Geus, E. J. C., Van Beijsterveldt, C. E. M., Bartels, M., et al. (2009b). The heritability of general cognitive ability increases linearly from childhood to young adulthood. *Molecular Psychiatry*, 15(11), 1112–1120.
- Haworth, C. M. A., Wright, M. J., Martin, N. W., Martin, N. G., Boomsma, D. I., Bartels, M., Posthuma, D., et al. (2009a). A twin study of the genetics of high cognitive ability selected from 11,000 twin pairs in six studies from four countries. *Behavior genetics*, 39(4), 359–370.
- Heaton, R., Chelune, G., Talley, J., Kay, G., & Curtiss, G. (1993). *Wisconsin card sorting test manual: revised and expanded*. Odessa, FL: Psychological Assessment Resources Inc.
- Hindorff, L. A., Sethupathy, P., Junkins, H. A., Ramos, E. M., Mehta, J. P., Collins, F. S., & Manolio, T. A. (2009). Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(23), 9362.
- Horn, J. L. (1989). Models of intelligence. *Intelligence: Measurement, theory, and public policy: Proceedings of a symposium in honor of Lloyd G. Humphreys* (pp. 29–73).
- Houlihan, L. M., Harris, S. E., Luciano, M., Gow, A. J., Starr, J. M., Visscher, P. M., & Deary, I. J. (2009). Replication study of candidate genes for cognitive abilities: the Lothian Birth Cohort 1936. *Genes, Brain and Behavior*, 8(2), 238–247.
- Ivleva, E. I., Morris, D. W., Moates, A. F., Suppes, T., Thaker, G. K., & Tamminga, C. A. (2010). Genetics and intermediate phenotypes of the schizophrenia-bipolar disorder boundary. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(6), 897–921.
- Jablensky, A., Morar, B., Wiltshire, S., Carter, K., Dragovic, M., Badcock, J. C., Chandler, D., et al. (2011). Polymorphisms associated with normal memory variation also affect memory impairment in schizophrenia. *Genes, Brain and Behavior*, 10(4), 410–417.
- Jäger, A. O. (1984). Intelligenzstrukturforschung: konkurrierende Modelle, neue Entwicklungen, Perspektiven. *Psychologische Rundschau*, 35(1), 21–35.
- Jäger, A. O., Süß, H. M., & Beauducel, A. (1997). Berliner Intelligenzstruktur-Test (BIS), Form 4. Göttingen: Hogrefe.
- Johnson, E. C. (2011). N-acetylaspartylglutamate is not demonstrated to be a selective mGlu<sub>3</sub> receptor agonist. *Journal of Neurochemistry*, 119(5), 896–898.
- Johnson, W., Penke, L., & Spinath, F. M. (2011). Heritability in the Era of Molecular Genetics: Some Thoughts for Understanding Genetic Influences on Behavioural Traits. *European Journal of Personality*, 25(4), 254–266.
- Johnson, Wendy. (2010). Understanding the Genetics of Intelligence. *Current Directions in Psychological Science*, 19(3), 177–182.

- Johnson, Wendy, Bouchard, T. J., McGue, M., Segal, N. L., Tellegen, A., Keyes, M., & Gottesman, I. I. (2007). Genetic and environmental influences on the Verbal-Perceptual-Image Rotation (VPR) model of the structure of mental abilities in the Minnesota study of twins reared apart. *Intelligence*, 35(6), 542–562.
- Jönsson, E. G., Saetre, P., Vares, M., Andreou, D., Larsson, K., Timm, S., Rasmussen, H. B., et al. (2009). DTNBP1, NRG1, DAOA, DAO and GRM3 Polymorphisms and Schizophrenia: An Association Study. *Neuropsychobiology*, 59(3), 142–150.
- Jung, R. E., & Haier, R. J. (2007). The parieto-frontal integration theory (P-FIT) of intelligence: Converging neuroimaging evidence. *Behavioral and Brain Sciences*, 30(2), 135–153.
- Kato, T. (2007). Molecular genetics of bipolar disorder and depression. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 61(1), 3–19.
- Kempf, L., & Weinberger, D. R. (2009). Molecular Genetics and Bioinformatics: An Outline for Neuropsychological Genetics. In: T. E. Goldberg & D. R. Weinberger (Hg.), *The Genetics of Cognitive Neuroscience*. Cambridge, Massachusetts; London, England: The MIT Press.
- Kim, Y., Zerwas, S., Trace, S. E., & Sullivan, P. F. (2011). Schizophrenia Genetics: Where Next? *Schizophrenia Bulletin*, 37(3), 456.
- Kniazeff, J., Prézeau, L., Rondard, P., Pin, J.-P., & Goudet, C. (2011). Dimers and beyond: The functional puzzles of class C GPCRs. *Pharmacology & Therapeutics*, 130(1), 9–25.
- Kovas, Y., & Plomin, R. (2006). Generalist genes: implications for the cognitive sciences. *Trends in Cognitive Sciences*, 10(5), 198–203.
- Krystal, J. H., Abi-Saab, W., Perry, E., D'Souza, D. C., Liu, N., Gueorguieva, R., McDougall, L., et al. (2005). Preliminary evidence of attenuation of the disruptive effects of the NMDA glutamate receptor antagonist, ketamine, on working memory by pretreatment with the group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY354740, in healthy human subjects. *Psychopharmacology*, 179(1), 303–309.
- Lin, P.-I., Vance, J. M., Pericak-Vance, M. A., & Martin, E. R. (2007). No gene is an island: the flip-flop phenomenon. *American Journal of Human Genetics*, 80(3), 531–538.
- Lohaus, A., Vierhaus, M., & Maass, A. (2010). *Entwicklungspsychologie des Kindes- und Jugendalters*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Luciano, M., Batty, G. D., McGilchrist, M., Linksted, P., Fitzpatrick, B., Jackson, C., Pattie, A., et al. (2010). Shared genetic aetiology between cognitive ability and cardiovascular disease risk factors: Generation Scotland's Scottish family health study. *Intelligence*, 38(3), 304–313.
- Luciano, M., Wright, M. J., Duffy, D. L., Wainwright, M. A., Zhu, G., Evans, D. M., Geffen, G. M., et al. (2006). Genome-wide scan of IQ finds significant linkage to a quantitative trait locus on 2q. *Behavior Genetics*, 36(1), 45–55.
- Luders, E., Narr, K. L., Thompson, P. M., & Toga, A. W. (2009). Neuroanatomical correlates of intelligence. *Intelligence*, 37(2), 156–163.
- Maier, W., & Rujescu, D. (2010). Gemeinsame Risikogene von affektiven und schizophrenen Erkrankungen. *Schizophrenie—Zukunftsperspektiven in Klinik und Forschung*, 93–103.

- Marek, G. J. (2010). Metabotropic glutamate2/3 (mGlu2/3) receptors, schizophrenia and cognition. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 81–90.
- Marenco, S., & Radulescu, E. (2010). Imaging genetics of structural brain connectivity and neural integrity markers. *NeuroImage*, 53(3), 848–856.
- Marenco, S., Steele, S. U., Egan, M. F., Goldberg, T. E., Straub, R. E., Sharrief, A. Z., & Weinberger, D. R. (2006). Effect of Metabotropic Glutamate Receptor 3 Genotype on N-Acetylaspartate Measures in the Dorsolateral Prefrontal Cortex. *The American Journal of Psychiatry*, 163(4), 740–742.
- Martí, S. B., Cichon, S., Propping, P., & Nöthen, M. (2002). Metabotropic glutamate receptor 3 (GRM3) gene variation is not associated with schizophrenia or bipolar affective disorder in the German population. *American Journal of Medical Genetics*, 114(1), 46–50.
- Matrisciano, F., Dong, E., Gavin, D. P., Nicoletti, F., & Guidotti, A. (2011). Activation of Group II Metabotropic Glutamate Receptors Promotes DNA Demethylation in the Mouse Brain. *Molecular Pharmacology*, 80(1), 174–182.
- McClearn, G. E., Johansson, B., Berg, S., Pedersen, N. L., Ahern, F., Petrill, S. A., & Plomin, R. (1997). Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science*, 276(5318), 1560.
- McGue, M., Bouchard, T. J., Iacono, W. G., & Lykken, D. T. (1993). Behavioral genetics of cognitive ability: A life-span perspective. In: R. Plomin (Hg.), *Nature, Nurture & Psychology* (pp. 59–76). American Psychological Association.
- McGuffin, P., Rijdsdijk, F., Andrew, M., Sham, P., Katz, R., & Cardno, A. (2003). The Heritability of Bipolar Affective Disorder and the Genetic Relationship to Unipolar Depression. *Archives of Genetic Psychiatry*, 60(5), 497–502.
- Meyer-Lindenberg, A. (2010). Intermediate or brainless phenotypes for psychiatric research. *Psychological Medicine*, 40(07), 1057–1062.
- Meyer-Lindenberg, A., & Weinberger, D. R. (2006). Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(10), 818–827.
- Miyajima, F., Ollier, W., Mayes, A., Jackson, A., Thacker, N., Rabbitt, P., Pendleton, N., et al. (2008). Brain-derived neurotrophic factor polymorphism Val66Met influences cognitive abilities in the elderly. *Genes, Brain and Behavior*, 7(4), 411–417.
- Moffitt, T. E., Caspi, A., Harkness, A. R., & Silva, P. A. (1993). The Natural History of Change to Intellectual Performance: Who Changes? How Much? Is it Meaningful? *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 34(4), 455–506.
- Moghaddam, B., & Adams, B. W. (1998). Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science*, 281(5381), 1349.
- Moghaddam, B., Adams, B. W., Verma, A., & Daly, D. (1997). Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience*, 17(8), 2921.
- Moghaddam, B., & Javitt, D. (2011). From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 4–15.

- Moises, H. W., Yang, L., Kristbjarnarson, H., Wiese, C., Byerley, W., Macciardi, F., Arolt, V., et al. (1995). An international two-stage genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Nature Genetics*, 11(3), 321–324.
- Moreno, J. L., Sealfon, S. C., & González-Maeso, J. (2009). Group II metabotropic glutamate receptors and schizophrenia. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(23), 3777–3785.
- Mössner, R., Schuhmacher, A., Schulze-Rauschenbach, S., Kühn, K. U., Rujescu, D., Rietschel, M., Zobel, A., et al. (2008). Further evidence for a functional role of the glutamate receptor gene GRM3 in schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 18(10), 768–772.
- Murray, R. M., & Lewis, S. W. (1987). Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 295(6600), 681.
- Muto, T., Tsuchiya, D., Morikawa, K., & Jingami, H. (2007). Structures of the extracellular regions of the group II/III metabotropic glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(10), 3759–3764.
- Myers, D. (2008). *Psychologie (2., erweiterte und aktualisierte Auflage)*. Heidelberg: Springer.
- Nagel, I. E., Chicherio, C., Li, S.-C., von Oertzen, T., Sander, T., Villringer, A., Heekeren, H. R., et al. (2008). Human Aging Magnifies Genetic Effects on Executive Functioning and Working Memory. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2, 1.
- Nanavati, D., Austin, D. R., Catapano, L. A., Luckenbaugh, D. A., Dosemeci, A., Manji, H. K., Chen, G., et al. (2011). The effects of chronic treatment with mood stabilizers on the rat hippocampal post-synaptic density proteome. *Journal of Neurochemistry*, 119(3), 617–629.
- Need, A. C., Attix, D. K., McEvoy, J. M., Cirulli, E. T., Linney, K. L., Hunt, P., Ge, D., et al. (2009). A genome-wide study of common SNPs and CNVs in cognitive performance in the CANTAB. *Human Molecular Genetics*, 18(23), 4650–4661.
- Newberg, A. R., Catapano, L. A., Zarate, C. A., & Manji, H. K. (2008). Neurobiology of bipolar disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 8(1), 93–110.
- Nichols, R. C. (1976). Heredity and Environment: Major Findings from Twin Studies of Ability, Personality and Interests.
- Nicodemus, K. K., Kolachana, B. S., Vakkalanka, R., Straub, R. E., Giegling, I., Egan, M. F., Rujescu, D., et al. (2006). Evidence for statistical epistasis between catechol-O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia. *Human Genetics*, 120(6), 889–906.
- Nicodemus, K. K., Marenco, S., Batten, A. J., Vakkalanka, R., Egan, M. F., Straub, R. E., & Weinberger, D. R. (2008). Serious obstetric complications interact with hypoxia-regulated/vascular-expression genes to influence schizophrenia risk. *Molecular Psychiatry*, 13(9), 873–877.
- Nicodemus, K. K., & Zhang, F. (2009). Statistical Methods in Neuropsychiatric Genetics. *The Genetics of Cognitive Neuroscience*. Cambridge, Massachusetts; London, England: The MIT Press.
- Nicoletti, F., Bockaert, J., Collingridge, G. L., Conn, P. J., Ferraguti, F., Schoepp, D. D., Wroblewski, J. T., et al. (2011). Metabotropic glutamate receptors: From the workbench to the bedside. *Neuropharmacology*, 60(7), 1017–1041.



- Niswender, C. M., & Conn, P. J. (2010). Metabotropic Glutamate Receptors: Physiology, Pharmacology, and Disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 50, 295–322.
- Norton, N., Williams, H. J., Dwyer, S., Ivanov, D., Preece, A. C., Gerrish, A., Williams, N. M., et al. (2005). No evidence for association between polymorphisms in GRM 3 and schizophrenia. *BMC Psychiatry*, 5(1), 23.
- Nothdurfter, C., Giegling, I., Konte, B., Hartmann, A. M., Konnerth, H., Friedl, M., Rammes, G., et al. (2012). Lack of association of the 5-HT(3A) receptor with schizophrenia. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 159B(3), 310–315.
- Nunokawa, A., Watanabe, Y., Kitamura, H., Kaneko, N., Arinami, T., Ujike, H., Inada, T., et al. (2008). Large-scale case-control study of a functional polymorphism in the glutamate receptor, metabotropic 3 gene in patients with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 62(2), 239–240.
- Oeth, P., Beaulieu, M., Park, C., Kosman, D., del Mistro, G., van den Boom, D., & Jurinke, C. (2005). iPLEX assay: Increased pllexing efficiency and flexibility for MassArray system through single base primer extension with mass-modified terminators. *Sequenom application note*, 1–12.
- Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Thapar, A., & Bray, N. J. (2011). Neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry*, 198(3), 173–175.
- Papaleo, F., Lipska, B. K., & Weinberger, D. R. (2012). Mouse models of genetic effects on cognition: Relevance to schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3), 1204–1220.
- Papassotiropoulos, A., & de Quervain, D. J.-F. (2011). Genetics of human episodic memory: dealing with complexity. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(9), 381–387.
- Papassotiropoulos, A., Henke, K., Stefanova, E., Aerni, A., Muller, A., Demougin, P., Vogler, C., et al. (2011). A genome-wide survey of human short-term memory. *Molecular Psychiatry*, 16(2), 184–192.
- Papassotiropoulos, A., Stephan, D. A., Huentelman, M. J., Hoerndli, F. J., Craig, D. W., Pearson, J. V., Huynh, K.-D., et al. (2006). Common Kibra alleles are associated with human memory performance. *Science*, 314(5798), 475–478.
- Parasuraman, R., & Jiang, Y. (2012). Individual differences in cognition, affect, and performance: Behavioral, neuroimaging, and molecular genetic approaches. *Neuroimage*, 59(1), 70–82.
- Patil, S. T., Zhang, L., Martenyi, F., Lowe, S. L., Jackson, K. A., Andreev, B. V., Avedisova, A. S., et al. (2007). Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nature Medicine*, 13(9), 1102–1107.
- Payton, A. (2009). The impact of genetic research on our understanding of normal cognitive ageing: 1995 to 2009. *Neuropsychology Review*, 19(4), 451–477.
- Pedersen, N. L., Plomin, R., Nesselroade, J. R., & McClearn, G. E. (1992). A quantitative genetic analysis of cognitive abilities during the second half of the life span. *Psychological Science*, 3(6), 346.

- Pietropaolo, S., & Crusio, W. E. (2011). Genes and cognition. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, 2(3), 345–352.
- Pilc, A., Chaki, S., Nowak, G., & Witkin, J. M. (2008). Mood disorders: regulation by metabotropic glutamate receptors. *Biochemical Pharmacology*, 75(5), 997–1006.
- Plomin, R., DeFries, J. C., McClearn, G. E., & McGuffin, P. (2008). *Behavioral Genetics* (5th ed.). New York: Worth Publishers.
- Plomin, R., Fulker, D. W., Corley, R., & DeFries, J. C. (1997). Nature, nurture, and cognitive development from 1 to 16 years. *Psychological Science*, 8(6), 442–447.
- Plomin, R., Haworth, C. M. A., & Davis, O. S. P. (2009). Common disorders are quantitative traits. *Nature Reviews Genetics*, 10(12), 872–878.
- Plomin, R., & Spinath, F. M. (2004). Intelligence: Genetics, genes, and genomics. *Journal of Personality and Social Psychology*, 86(1), 112.
- Porcelli, S., Fabbri, C., Drago, A., Gibiino, S., De Ronchi, D., & Serretti, A. (2011). Genetics and Antidepressant: Where We Are. *Clinical Neuropsychiatry*, 8(2), 99–150.
- Pöschel, B., Wroblewska, B., Heinemann, U., & Manahan-Vaughan, D. (2005). The Metabotropic Glutamate Receptor mGluR3 is Critically Required for Hippocampal Long-term Depression and Modulates Long-term Potentiation in the Dentate Gyrus of Freely Moving Rats. *Cerebral Cortex*, 15(9), 1414–1423.
- Posthuma, D., de Geus, E. J. C., & Boomsma, D. I. (2001). Perceptual speed and IQ are associated through common genetic factors. *Behavior Genetics*, 31(6), 593–602.
- Posthuma, D., de Geus, E. J. C., & Deary, I. J. (2009). The Genetics of Intelligence. *The Genetics of Cognitive Neuroscience*. Cambridge, Massachusetts; London, England: The MIT Press.
- Posthuma, D., Luciano, M., Geus, E. J. C. de, Wright, M. J., Slagboom, P. E., Montgomery, G. W., Boomsma, D. I., et al. (2005). A genomewide scan for intelligence identifies quantitative trait loci on 2q and 6p. *American Journal of Human Genetics*, 77(2), 318–326.
- Potkin, S. G., Turner, J. A., Guffanti, G., Lakatos, A., Torri, F., Keator, D. B., & Macciardi, F. (2009). Genome-wide Strategies for Discovering Genetic Influences on Cognition and Cognitive Disorders: Methodological Considerations. *Cognitive Neuropsychiatry*, 14(4-5), 391–418.
- Poustka, F., & Maier, W. (2009). Genetik der kognitiven Fähigkeiten in der Lebensspanne. *Der Nervenarzt*, 80(11), 1312–1321.
- Qiagen (Ed.). (2005). *QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook* (2. Auflage). Hilden.
- Rasch, B., Papassotiropoulos, A., & de Quervain, D. J.-F. (2010). Imaging genetics of cognitive functions: Focus on episodic memory. *NeuroImage*, 53(3), 870–877.
- Rasetti, R., & Weinberger, D. R. (2011). Intermediate phenotypes in psychiatric disorders. *Current Opinion in Genetics & Development*, 21(3), 340–348.
- Raven, J. C. (1938). *Progressive Matrices*. London: Lewis.
- Reitan, R. M. (1958). Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Perceptual and Motor Skills*, 8, 271.

- Riccio, C. A., Reynolds, C. R., & Lowe, P. A. (2001). *Clinical applications of continuous performance tests: measuring attention and impulsive responding in children and adults*. John Wiley and Sons.
- Rice, J. P., Reich, T., Bucholz, K. K., Neuman, R. J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V. M., et al. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19(4), 1018–1023.
- Richter, V., & Guthke, J. (1996). *Leipziger Ereignis-und Belastungsinventar (LEBI)*. Hogrefe Verlag für Psychologie.
- Ruano, D., Abecasis, G. R., Glaser, B., Lips, E. S., Cornelisse, L. N., de Jong, A. P. H., Evans, D. M., et al. (2010). Functional Gene Group Analysis Reveals a Role of Synaptic Heterotrimeric G Proteins in Cognitive Ability. *American Journal of Human Genetics*, 86(2), 113–125.
- Rujescu, D. (2010). Neue Ergebnisse in der genetischen Forschung bei schizophrenen Psychosen. In: H.-J. Möller & N. Müller (Hg.), *Schizophrenie — Zukunftsperspektiven in Klinik und Forschung* (pp. 133–141). Vienna: Springer Vienna.
- Rujescu, D. (2011). Are we going to end up with many distinct genomic syndromes in psychiatry? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 261(3), 145–146.
- Sanacora, G., Zarate, C. A., Krystal, J., & Manji, H. K. (2008). Targeting the Glutamatergic System to Develop Novel, Improved Therapeutics for Mood Disorders. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 7(5), 426–437.
- Sartorius, L. J., Nagappan, G., Lipska, B. K., Lu, B., Sei, Y., Ren-Patterson, R., Li, Z., et al. (2006). Alternative splicing of human metabotropic glutamate receptor 3. *Journal of Neurochemistry*, 96(4), 1139–1148.
- Sartorius, L. J., Weinberger, D. R., Hyde, T. M., Harrison, P. J., Kleinman, J. E., & Lipska, B. K. (2008). Expression of a GRM3 splice variant is increased in the dorsolateral prefrontal cortex of individuals carrying a schizophrenia risk SNP. *Neuropsychopharmacology*, 33(11), 2626–2634.
- Satzger, W., Fessmann, H., & Engel, R. R. (2002). Liefern HAWIE-R, WST und MWT-B vergleichbare IQ-Werte? *Zeitschrift für Differentielle und Diagnostische Psychologie*, 23(2), 159–170.
- Scaccianoce, S., Matrisciano, F., Del Bianco, P., Caricasole, A., Di Giorgi Gerevini, V., Cappuccio, I., Melchiorri, D., et al. (2003). Endogenous activation of group-II metabotropic glutamate receptors inhibits the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Neuropharmacology*, 44(5), 555–561.
- Scarr, S., & Weinberg, R. A. (1977). Intellectual similarities within families of both adopted and biological children. *Intelligence*, 1(2), 170–191.
- Schaper, K., Kolsch, H., Popp, J., Wagner, M., & Jessen, F. (2008). KIBRA gene variants are associated with episodic memory in healthy elderly. *Neurobiology of Aging*, 29(7), 1123–1125.
- Scherer, S. W., Duvoisin, R. M., Kuhn, R., Heng, H. H., Belloni, E., & Tsui, L. C. (1996). Localization of two metabotropic glutamate receptor genes, GRM3 and GRM8, to human chromosome 7q. *Genomics*, 31(2), 230–233.

- Schmidt, K. H., & Metzler, P. (1992). *WST Wortschatztest*. Weinheim: Beltz Test GmbH.
- Schmidt-Kastner, R., van Os, J., W.M. Steinbusch, H., & Schmitz, C. (2006). Gene regulation by hypoxia and the neurodevelopmental origin of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 84(2-3), 253–271.
- Schmitt, A., Hasan, A., Gruber, O., & Falkai, P. (2011). Schizophrenia as a disorder of disconnectivity. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 261, 150–154.
- Schulze, T. G. (2010). Genetic research into bipolar disorder: the need for a research framework that integrates sophisticated molecular biology and clinically informed phenotype characterization. *Psychiatric Clinics of North America*, 33(1), 67–82.
- Schwab, S. G., Plummer, C., Albus, M., Borrmann-Hassenbach, M., Lerer, B., Trixler, M., Maier, W., et al. (2008). DNA sequence variants in the metabotropic glutamate receptor 3 and risk to schizophrenia: an association study. *Psychiatric Genetics*, 18(1), 25.
- Shyn, S. I., & Hamilton, S. P. (2010). The genetics of major depression: moving beyond the monoamine hypothesis. *The Psychiatric Clinics of North America*, 33(1), 125–140.
- Silbernagl, S., & Despopoulos, A. (2003). *Taschenatlas der Physiologie* (6., korrigierte Auflage). Stuttgart: Thieme.
- Sklar, P., Smoller, J. W., Fan, J., Ferreira, M. A. R., Perlis, R. H., Chambert, K., Nimgaonkar, V. L., et al. (2008). Whole-genome association study of bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 13(6), 558–569.
- Small, B. J., Rosnick, C. B., Fratiglioni, L., & Bäckman, L. (2004). Apolipoprotein E and cognitive performance: a meta-analysis. *Psychology and Aging*, 19(4), 592.
- Sodhi, M., Wood, K. H., & Meador-Woodruff, J. (2008). Role of glutamate in schizophrenia: integrating excitatory avenues of research. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 8(9), 1389–1406.
- Spearman, C. (1904). “General Intelligence,” Objectively Determined and Measured. *The American Journal of Psychology*, 15(2), 201–292.
- Spearman, C. (1927). *The abilities of man*. London: Macmillan.
- Spinath, F. M., Ronald, A., Harlaar, N., Price, T. S., & Plomin, R. (2003). Phenotypic g early in life: On the etiology of general cognitive ability in a large population sample of twin children aged 2-4 years. *Intelligence*, 31(2), 195–210.
- Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99(2), 195.
- Stern, W. (1912). Die psychologischen Methoden der Intelligenzprüfung und deren Anwendung an Schulkindern. In: F. Schumann (Hg.), *Bericht über den 5. Kongreß für Experimentelle Psychologie in Berlin* (pp. 1–109).
- Sternberg, R. J. (1985). *Beyond IQ: A triarchic theory of human intelligence*. Cambridge University Press.
- Strenze, T. (2007). Intelligence and socioeconomic success: A meta-analytic review of longitudinal research. *Intelligence*, 35(5), 401–426.

- Stroop, J. R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*, 18(6), 643–662.
- Sullivan, P. F. (2007). Spurious genetic associations. *Biological Psychiatry*, 61(10), 1121–1126.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., & Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a Complex Trait: Evidence From a Meta-analysis of Twin Studies. *Archives of General Psychiatry*, 60(12), 1187–1192.
- Swanson, C. J., Bures, M., Johnson, M. P., Linden, A.-M., Monn, J. A., & Schoepp, D. D. (2005). Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 4(2), 131–144.
- Swerdlow, N. R. (2010). Integrative circuit models and their implications for the pathophysiologies and treatments of the schizophrenias. In: *Behavioral Neurobiology of Schizophrenia and Its Treatment* (pp. 555–583). Heidelberg, Dordrecht, London, New York: Springer.
- Tan, H.-Y., Chen, Q., Sust, S., Buckholtz, J. W., Meyers, J. D., Egan, M. F., Mattay, V. S., et al. (2007). Epistasis between catechol-O-methyltransferase and type II metabotropic glutamate receptor 3 genes on working memory brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(30), 12536–12541.
- Tewes, U. (Hg.). (1994). *HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene; Revision 1991* (2. korrigierte Auflage.). Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Huber.
- Thurstone, L. L. (1938). *Primary mental abilities. Psychometric Monographs, No. 1*. Chicago: University of Chicago Press.
- Thurstone, L. L., & Thurstone, T. G. (1941). *Factorial studies of intelligence, Psychometric Monographs, No. 2*. Chicago: University of Chicago Press.
- Tochigi, M., Suga, M., Ohashi, J., Otowa, T., Yamasue, H., Kasai, K., Kato, T., et al. (2006). No association between the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (GRM3) and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophrenia Research*, 88(1-3), 260–264.
- Tsunoka, T., Kishi, T., Ikeda, M., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., et al. (2009). Association analysis of Group II metabotropic glutamate receptor genes (GRM2 and GRM3) with mood disorders and fluvoxamine response in a Japanese population. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(5), 875–879.
- Tsunoka, T., Kishi, T., Ikeda, M., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., et al. (2011). No Association Between GRM3 and Japanese Methamphetamine-Induced Psychosis. *Current Neuropharmacology*, 9(1), 160–162.
- Tulving, E., & Markowitsch, H. J. (1998). Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus*, 8(3), 198–204.
- van Winkel, R. (2011). Family-based analysis of genetic variation underlying psychosis-inducing effects of cannabis: sibling analysis and proband follow-up. *Archives of General Psychiatry*, 68(2), 148–157.
- Vinkhuyzen, A. A. E., van der Sluis, S., de Geus, E. J. C., Boomsma, D. I., & Posthuma, D. (2010). Genetic influences on “environmental” factors. *Genes, Brain and Behavior*, 9(3), 276–287.
- Visser, B. A., Ashton, M. C., & Vernon, P. A. (2006). Beyond g: Putting multiple intelligences theory to the test. *Intelligence*, 34(5), 487–502.

- Wagner, M., & Petrovsky, N. (2010). Genetische Aspekte der Neuropsychologie psychischer Störungen. In: S. Lautenbacher & S. Gauggel (Hg.), *Neuropsychologie psychischer Störungen* (pp. 145–164). Berlin, Heidelberg.
- Wainwright, M. A., Wright, M. J., Luciano, M., Montgomery, G. W., Geffen, G. M., & Martin, N. G. (2006). A linkage study of academic skills defined by the Queensland core skills test. *Behavior Genetics*, 36(1), 56–64.
- Wechsler, D. (1939). *The measurement of adult intelligence*. Baltimore.
- Wedenoja, J., Loukola, A., Tuulio-Henriksson, A., Paunio, T., Ekelund, J., Silander, K., Varilo, T., et al. (2007). Replication of linkage on chromosome 7q22 and association of the regional Reelin gene with working memory in schizophrenia families. *Molecular Psychiatry*, 13(7), 673–684.
- Weinberger, D. R. (1986). The pathogenesis of schizophrenia: a neurodevelopmental theory. *Handbook of Schizophrenia*, 1, 397–406.
- Weiße, R. H., Osterland, J., & Cattell, R. B. (1997). CFT1—Grundintelligenztest Skala 1. Göttingen: Testzentrale.
- Williams, H. J., Bray, N. J., Russo, G., Hamshere, M. L., Moskvina, V., Dwyer, S., Smith, R. L., et al. (2011). Most genome-wide significant susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder reported to date cross traditional diagnostic boundaries. *Human Molecular Genetics*, 20(2), 387–391.
- Winkler, D., Pjrek, E., & Kasper, S. (2010). Gen-Umwelt-Interaktionen und Gen-Umwelt-Korrelationen bei psychiatrischen Erkrankungen. *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie*, 11(1), 58–62.
- Wisdom, N. M., Callahan, J. L., & Hawkins, K. A. (2011). The effects of apolipoprotein E on non-impaired cognitive functioning: a meta-analysis. *Neurobiology of Aging*, 32(1), 63–74.
- Witkin, J. M. (2010). Glutamatergic Modulators for the Treatment of Major Depressive Disorder: Metabotropic Glutamate Receptors. In: P. Skolnick (Hg.), *Glutamate-based Therapies for Psychiatric Disorders* (pp. 57–74). Basel: Birkhäuser Basel.
- Wittchen, H. U., Zaudig, M., & Fydrich, T. (1997). SKID-I und SKID-II. *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV. Achse I: Psychische Störungen/Achse II: Persönlichkeitsstörungen*. Freiburg/Schweiz: Hogrefe Testsystem.
- Wüst, S., & de Geus, E. J. C. (2011). Bedeutung der Genetik für Psychoneuroendokrinologie und Psychoimmunologie. In: U. Ehler & R. von Känel (Hg.), *Psychoendokrinologie und Psychoimmunologie* (pp. 163–185). Berlin, Heidelberg: Springer.
- Yasuhara, A., & Chaki, S. (2010). Metabotropic glutamate receptors: potential drug targets for psychiatric disorders. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 4, 20–36.
- Yeo, R. A., Gangestad, S. W., Liu, J., Calhoun, V. D., & Hutchison, K. E. (2011). Rare Copy Number Deletions Predict Individual Variation in Intelligence. *PloS one*, 6(1), e16339.
- Yosifova, A., Mushiroda, T., Stoianov, D., Vazharova, R., Dimova, I., Karachanak, S., Zaharieva, I., et al. (2009). Case-control association study of 65 candidate genes revealed a possible association of a SNP of HTR5A to be a factor susceptible to bipolar disease in Bulgarian population. *Journal of Affective Disorders*, 117(1-2), 87–97.

- Zhang, F., Gu, W., Hurles, M. E., & Lupski, J. R. (2009). Copy Number Variation in Human Health, Disease, and Evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(1), 451–481.
- Zhang, J. P., Burdick, K. E., Lencz, T., & Malhotra, A. K. (2010). Meta-analysis of genetic variation in DTNBP1 and general cognitive ability. *Biological Psychiatry*, 68(12), 1126–1133.

## Dank

Zunächst bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. H.-J. Möller sowie seinem Nachfolger Prof. Dr. P. Falkai für die Möglichkeit, in der von ihnen geleiteten Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie promovieren zu können.

Herr Prof. Dr. D. Rujescu gab mir die Möglichkeit, diese Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe für Molekulare und Klinische Neurobiologie durchführen zu können. Dafür und für die kompetente Betreuung möchte ich ihm und der ganzen Arbeitsgruppe meinen Dank aussprechen.

Ganz besonders lieber Dank gilt Frau Dr. Heike Konnerth, die mich intensiv in die klinischen Tests eingearbeitet hat und von der ich stets hilfsbereite Betreuung und Unterstützung im praktischen Teil der Arbeit bekam und die immer ein offenes Ohr für die Fragen ihrer Doktoranden hatte.

Aufrichtiger Dank geht an Frau Dr. Ina Giegling für die Hilfestellung und Unterstützung bei der praktischen Arbeit und für das Korrekturlesen der schriftlichen Arbeit. Ein ganz herzlicher Dank gilt Frau Dr. Annette Hartmann für die konstruktiven Gespräche, das Beantworten zahlreicher E-Mails und für ihre Hilfe bei labortechnischen, genetischen und bibliographischen Fragen. Frau Dr. Marion Friedl danke ich besonders für das Korrekturlesen und für ihre hilfreichen Anmerkungen, Ratschläge und Anregungen bei der Fertigstellung der schriftlichen Arbeit.

Nicht zuletzt gilt mein Dank allen Probanden, die sich für diese Studie zur Verfügung gestellt haben und die mit großem Engagement und auch mit viel Geduld die aufwendigen Tests und klinischen Interviews absolvierten und zahlreiche Fragebögen beantworteten.

Schließlich danke ich ganz besonders meinem Mann und meiner Familie, die mich immer vorbehaltlos unterstützt haben.